DELIAN ELENA

FIZIOLOGIA PLANTELOR

BUCUREŞTI
2010

CUPRINS

PARTEA I 7

CAPITOLUL 1. **INTRODUCERE ÎN FIZIOLOGIA PLANTELOR** 7

1.1.Definiţie, scop, importanţă 7

1.2.Istoricul cercetărilor de fiziologia plantelor 7

1.2.1. Fiziologia plantelor pe plan mondial 7

1.2.2. Fiziologia plantelor în România 10

1.3.Raporturile fiziologiei plantelor cu alte ştiinţe 11

1.4.Metode de cercetare utilizate în fiziologia plantelor 11

CAPITOLUL 2. **FIZIOLOGIA CELULEI VEGETALE** 13

2.1. Proprietăţíle fiziologice ale materiei vii 13

2.2. Principalele particularităţi structurale ale celulei la plantele superioare şi rolul fiziologic al componentelor celulare 14

2.2.1. Peretele celular 15

2.2.1.1. Formarea peretelui celular şi componentele acestuia 15

2.2.1.2. Modificări secundare ale peretelui celular 19

2.2.1.3. Rolul fiziologic al peretelui celular 20

2.2.2. Membrana citoplasmatică – Plasmalema 20

2.2.2.1. Componentele membranei citoplasmatice 21

2.2.2.2. Proprietăţile plasmalemei 22

2.2.2.3. Rolul fiziologic al plasmalemei 23

2.2.3. Citosolul 23

2.2.4. Citoscheletul 24

2.2.5. Sistemul de endomembrane 24

2.2.5.1. Reticulul endoplasmatic 25

2.2.5.2. Complexul Golgi 26

2.2.5.3. Microvezicule 27

2.2.6. Ribozomii 28

2.2.7. Plastidele 29

2.2.8. Mitocondriile 30

2.2.9. Nucleul 31

2.2.10. Vacuomul celular 32

CAPITOLUL 3. **RELAŢIA CELULĂ VEGETALĂ - MEDIU** 35

3.1. Relaţia celulei vegetale cu apa 35

3.1.1. Principalele procese care guvernează transportul apei şi căile specifice de transport 36

3.1.2. Pătrunderea apei în celula vegetală şi generarea stării de turgescenţă 39

3.1.2.1. Aquaporinele – descoperire, dovezi ale existenţei lor şi importanţă 40

3.1.3. Plasmoliza – generare, importanţă 42

3.1.4 Relaţiile dintre diferite forţe, relativ la starea de hidratare a celulei vegetale la un moment dat 43

3.2. Pătrunderea şi transportul substanţelor dizolvate în celula vegetală 44

3.2.1 Transportul pasiv şi activ al substanţelor 45

3.2.1.1. Transportul pasiv prin membranele biologice 45

3.2.1.2 Transportul activ prin membranele biologice 46

3.3. Schimburile de gaze dintre celula vegetală şi mediu 49

CAPITOLUL 4. **REGIMUL DE APĂ AL PLANTELOR** 51

4.1. Clasificarea plantelor în funcţie de relaţia lor cu umiditatea solului 52

4.2. Conţinutul de apă al plantelor, stările şi formele apei din plante 52

4.3. Rolul apei în viaţa plantei 52

4.4. Absorbţia apei de către plante 54
4.4.1. Căile şi mecanismul de absorbţie a apei de către plante 54
4.4.1.1. Absorbţia apei prin rădăcină şi transportul extra-fascicular către xilem 54
4.4.1.2. Absorbţia apei prin organele aeriene 56
4.4.2. Factorii care influenţează absorbţia apei de către plante 57
4.5. Transportul apei (şi substanţelor) în plante 60
4.5.1. Căile de transport a apei şi substanţelor 60
4.5.2. Forţele care contribuie la circulaţia apei (şi substanţelor) prin xilem 61
4.6. Eliminarea apei din plante 64
4.6.1. Transpiraţia 64
4.6.1.1. Tipurile de transpiraţie 65
4.6.1.2. Particularităţile structurale şi funcţionale ale complexului stomatic 65
4.6.1.3. Influenţa factorilor asupra transpiraţiei 70
4.6.1.4. Indicatori fiziologici privind transpiraţia 73
4.6.2. Gutaţia 75
***CAPITOLUL 5*. FIZIOLOGIA NUTRIŢIEI MINERALE** 77
5.1. Rolul fiziologic general şi criterii de clasificare a elementelor minerale 77
5.2. Metode de studiu a nutriţiei minerale a plantelor 79
5.2.1. Creşterea plantelor pe soluţii nutritive minerale artificiale - importanţă teoretică şi practică 80
5.2.2. Analiza stării de nutriţie a plantei 82
5.3. Absorbţia, transportul şi utilizarea substanţelor minerale de către plante 83
5.3.1. Semnalizările moleculare la nivelul rizosferei: – interacţiunile sol – rădăcini – microorganisme 83
5.3.2. Absorbţia substanţelor minerale prin rădăcină, transportul şi acumularea ionilor minerali în plantă 86
5.3.2.1. Absorbţia substanţelor minerale prin rădăcină 86
5.3.2.2. Absorbţia substanţelor minerale prin organele aeriene 87
5.3.2.3. Transportul, acumularea ionilor minerali în plante şi desorbţia substanţelor din plante 87
5.4. Rolul fiziologic al principalelor elemente minerale şi dereglări fiziologice determinate de stresul nutriţional 88
5.5. Adaptări ale sistemului radicular pentru favorizarea aprovizionării plantei cu apă şi substanţe minerale 96
5.5.1. Simbioza dintre ciupercile micoritice şi rădăcinile plantelor – Micorizele 96
5.5.1.1. Principalele avantaje ale plantelor cu micorize şi importanţa practică a micorizelor 97
5.5.1.2 Tipuri de micorize 99
5.5.1.3. Particularităţi ale micorizelor vezicular- arbusculare 101
5.5.2. Fixarea biologică a azotului – Simbiozele de tip rhizobial şi actinorhizal 104
5.5.2.1. Particularităţi fiziologice ale stabilirii simbiozei bacterie- rădăcină 104
5.5.2.2. Procese fiziologice şi biochimice privind fixarea azotului molecular 107
5.5.3. Asemănări şi deosebiri structurale şi funcţionale dintre simbiozele arbuscular-micorhizale şi noduli 110
PARTEA II 113
***CAPITOLUL 6.* NUTRIŢIA CU CARBON LA PLANTE** 113
6.1. Tipuri de nutriţie cu carbon la plante 114
6.2. Fotosinteza 114
6.2.1. Definiţie, ecuaţie generală, importanţă 114
6.2.2. Sediul fotosintezei la nivelul plantei şi la nivel celular 115
6.2.3. Condiţii prioritare pentru desfăşurarea fotosintezei 116
6.2.3.1. Pigmenţii asimilatori 116

6.2.3.2. Lumina 118
6.2.4. Mecanismul procesului de fotosinteză 120
6.2.4.1. Faza dependentă de lumină la plantele superioare 121
6.2.4.2. Faza independentă de lumină (enzimatică) a fotosintezei – reducerea dioxidului de carbon şi sinteza hidraţilor de carbon 125
6.2.5. Factorii care influenţează fotosinteza 133
6.2.5.1. Factorii interni care influenţează fotosinteza 133
6.2.5.2. Factorii externi care influenţează fotosinteza 135
6.2.6. Legătura dintre fotosinteză şi recoltă. Măsuri de sporire a recoltei 138
6.3. Nutriţia autotrof chimiosintetizantă 139
6.4. Nutriţia heterotrofă 139
6.5. Nutriţia mixotrofă 140
***CAPITOLUL 7.* TRANSPORTUL SUBSTANŢELOR ORGANICE ÎN PLANTE** 143
7.1. Particularităţi structurale şi funcţionale ale floemului 144
7.2. Substanţe translocate şi mecanismul de translocare prin floem 148
7.2.1. Tipuri şi forme de substanţe translocate prin floem 148
7.2.2. Căile de parcurs, de la sursă către utilizator şi mecanismul de transport 149
7.3. Factorii care influenţează translocarea prin floem 153
7.4. Depozitarea substanţelor organice de rezervă 154
***CAPITOLUL 8.* BIODEGRADAREA SUBSTANŢELOR ORGANICE DE REZERVĂ** 157
8.1. Respiraţia – Definiţie, Ecuaţie generală, Importanţă 157
8.2. Etapele procesului de biodegradare a substanţelor organice de rezervă 159
8.2.1. Etapa I-a - Biodegradarea enzimatică a substanţelor organice de rezervă 159
8.2.2. Etapa a II-a de biodegradare a substanţelor organice de rezervă 160
8.2.2.1. Biodegradarea glucozei pe calea glicolizei – prima fază a respiraţiei 161
8.2.3. Etapa a III-a de biodegradare a substanţelor organice de rezervă 163
8.2.3.1. Mecanismul biodegradării aerobe a acidului piruvic (respiraţiei mitocondriale) - faza a doua a respiraţiei 163
8.2.3.1.1. Bilanţul energetic al biodegradării glucozei 167
8.2.3.1.2. Căi alternative, prin care se evită conservarea energiei, în cursul fosforilării oxidative 168
8.2.3.2. Biodegradarea anaerobă a acidului piruvic 170
8.2.3.2.1. Mecanismul căilor fermentative la plantele superioare şi importanţa practică 170
8.3. Factorii care influenţează procesul de respiraţie şi importanţa practică a cunoştinţelor privind respiraţia plantelor 171
***CAPITOLUL 9.* FIZIOLOGIA CREŞTERII ŞI DEZVOLTĂRII PLANTELOR** 177
9.1. Aspecte generale privind creşterea şi dezvoltarea plantelor 178
9.2. Particularităţi ale creşterii plantelor 179
9.2.1. Etapele creşterii celulare 181
9.2.1.1. Creşterea embrionară 181
9.2.1.2. Creşterea prin elongaţie 183
9.2.1.3. Diferenţierea celulară 184
9.2.2. Particularităţi ale creşterii organelor plantelor 185
9.2.3. Evaluarea creşterii plantelor 192
9.3. Mişcările de creştere la plante 193
9.3.1. Factori implicaţi şi mecanismul general de realizare a mişcărilor 194
9.3.2. Clasificarea mişcărilor la plante 194
9.3.2.1. Tropisme 195
9.3.2.2. Nastii 197
9.3.2.3. Nutaţii 198

9.4. Controlul formării florilor 199
9.4.1. Principii de bază ale formării florilor 200
9.4.1.1. Fotoperiodismul şi ceasul circadian 203
9.4.1.2. Giberelinele 208
9.4.1.3. Redirecţionarea autonomă 209
9.4.1.4. Vernalizarea 209
9.5. Fiziologia legării, maturării şi senescenţei fructelor 212
9.6. Senescenţa, abscisia şi moartea 213
9.7. Factorii care influenţează creşterea şi dezvoltarea plantelor 215
9.7.1. Factorii externi care influenţează creşterea şi dezvoltarea plantelor 215
9.7.2. Hormonii vegetali şi rolul lor în creşterea şi dezvoltarea plantelor 217
9.7.2.1. Mecanismul general de acţiune a hormonilor vegetali 217
9.7.2.2. Principalele clase de hormoni vegetali şi funcţiile acestora 218
CAPITOLUL 10. **DORMANȚA SAU STAREA DE REPAUS LA PLANTE** 223
10.1 Tipuri de dormanţă, factori implicaţi şi mecanism fiziologic general 224
10.2. Dormanţa plantei întregi 226
10.3. Dormanţa mugurilor la plantele lemnoase – Perenitatea 226
10.3.1. Fazele și controlul dormanței mugurilor 226
10.4. Dormanța altor muguri 229
10. 5. Dormanţa la semințe 230
10.5.1. Tipuri de dormanţă la semințe 231
10.5.2. Mecanismul dormanței semințelor 232
10.5 3. Germinarea 232
10.5.3.1. Fiziologia și biochimia germinării semințelor 234

PARTEA I

CAPITOLUL 1

INTRODUCERE ÎN FIZIOLOGIA PLANTELOR

1.1. Definiţie, scop, importanţă

Fiziologia plantelor sau fiziologia vegetală este o ştiinţă biologică, care se ocupă cu studiul proceselor fundamentale ale vieţii plantelor, precum: nutriţia, creşterea, dezvoltarea etc. şi a capacităţii de adaptare la condiţii noi de viaţă, atât favoabile cât şi nefavorabile. Termenul de fiziologie derivă de la cuvintele greceşti *physis* = natură şi *logos* = ştiinţă, vorbire.

Scopul fiziologiei plantelor îl reprezintă cunoaşterea proceselor vitale, în aşa fel încât să ne dea posibilitatea dirijării vieţii plantelor, în vederea obţinerii unor producţii maxime, de calitate superioară şi în condiţiile unei profitabilităţii maxime. C.A. Timiriazev, cel mai mare dintre fiziologii botanişti ruşi spunea: " scopul spre care tinde fiziologia plantelor constă în a studia şi explica fenomenele vitale din organismul vegetal şi nu numai a le studia şi explica, dar în urma acestui studiu şi a acestei explicaţii să le supunem pe deplin voinţei raţionale a omului, astfel ca el să poată, după dorinţă, să schimbe, să oprească sau să provoace aceste feomene. Fiziologul nu poate să se mulţumească cu rolul pasiv al observatorului; ca experimentator, el este un element activ, care dirijează natura " (Opere, Vol. V, pag. 143).

Importanţa fiziologiei plantelor pentru agricultură a fost redată foarte sugestiv încă din secolul al XIX-lea, când Timireazev în cartea sa, *Viaţa plantelor* (1878) preciza: "*importanţa crescândă pe care o are agricultura ştiinţică va îndreptăţi desigur, cu timpul, convingerea că fiziologia plantelor va ocupa în viitor aceeaşi situaţie, pe care o are fiziologia omului în raport cu medicina*". În prezent, fiziologia plantelor a devenit ştiinţa dirijării proceselor vitale ale plantelor în scopul dorit, constituind baza ştiinţifică pentru aprofundarea cercetărilor cu privire la plante în general şi a plantelor de cultură în special.

Totodată, fiziologia plantelor pune la dispoziţia agronomului şi horticultorului date cu privire la păstrarea produselor agricole şi horticole; oferă indicaţii importante în legătură cu creşterea plantelor în condiţii de seră, în soluţii nutritive etc.; folosirea stimulatorilor de creştere sintetici (pentru stimularea germinării seminţelor, înrădăcinarea butaşilor, combaterea chimică a buruienilor etc.). În acelaşi timp, pe baza cunoştinţelor de fiziologie vegetală, agronomul poate cerceta comportarea plantelor de cultură în condiţii nefavorabile de mediu, precum seceta, excesul de umiditate, temperatura ridicată, temperatura joasă negativă, concentraţiile mari de săruri, atacul unor agenţi patogeni, precum şi măsurile care pot fi luate, cu scopul sporirii rezistenţei plantelor la acţiunea dăunătoare a factorilor de stres abiotici şi biotici.

1.2. Istoricul cercetărilor de fiziologia plantelor

1.2.1. Fiziologia plantelor pe plan mondial

Fiziologia plantelor este ştiinţă relativ tânără, conturându-se ca ştiinţă de sine stătătoare în cadrul botanicii, începând cu secolul al XVI-lea.

Istoria fiziologiei, asemenea sistematicii este însă de o mai mare extindere în trecut, dar, procesele de recunoaştere a acesteia au fost mult încetinite. Cunoştinţele secolelor al XVI-lea şi al XVII-lea nu au fost diferite de cele ale antichităţii. Era cunoscut faptul că rădăcina nu serveşte doar pentru fixarea plantei în sol, ci şi pentru absorbţia nutrienţilor şi că anumite îngrăşăminte, precum cenuşa promovează creşterea.

Prin urmare, *primele cunoştinţe de fiziologia plantelor datează din antichitate* fiind cuprinse în operele unor reprezentanţi de seamă ai acelei perioade: Aristotel, Theophrast, Plinius.

În Evul Mediu, toate cunoştinţele au fost dominate de concepţiile religioase. A cerceta natura era un sacrilegiu, iar relevarea realităţii biologice, fără a include divinitatea la originea a tot ce exista, era plătită cu viaţa. Cu scarificii însă, oamenii au cercetat în continuare şi au făcut descoperiri valoroase. *În perioada renaşterii* s-au scris primele cărţi de botanică şi a apărut necesitatea ca cercetarea naturii să se facă pe bază de experimente.

Prima experienţă de fiziologie vegetală fost efectuată de Johannes Baptista van **Helmont** (1577-1644) (fizician şi chimist flamand), care în anii *1600*, în urma unui faimos experiment a demonstrat că plantele utilizează substanţe în forma în care se găsesc în sol, în opoziţie cu ideea susţinută de Aristotel (după care plantele s-ar hrăni ca şi animalele, cu substanţe organice gata pregătite din sol) şi totodată a precizat rolul deosebit al apei în viaţa plantelor. El a utilizat metoda gravimetrică, respectiv a introdus într-un vas pământ exact cântărit şi a plantat un butaş de salcie. A adăugat apă într-o cantitate determinată, în fiecare zi şi a urmărit experienţa timp de 5 ani. Constatarea a fost că practic nu au existat diferenţe între masa iniţială şi masa finală a solului. Deoarece nu se cunoştea nimic despre fotosinteză, Helmont, dominat de concepţia primordialităţii apei, ca factor de geneză a vieţii (concepţia lui Thales din Milet) a concluzionat că salcia a crescut numai datorită apei.

E. **Mariotte** (1620-1684) a realizat în anul *1679* că cele mai diferite plante pot primi aceiaşi nutrienţi, din aceleaşi componente ale solului şi că acestea sunt capabile să formeze mai mulţi compuşi, decât cei care se găsesc în sol. Pe lângă aceasta, el a observat că una şi aceeaşi sevă brută poate produce un gust astringent la un fruct de păr sălbatic şi un gust bun în cazul unui altoi, altoit pe pomul sălbatic. El a dovedit prin distilare faptul că, aceleaşi specii conţin întotdeauna aceiaşi compuşi şi a demonstrat astfel că transformarea materiei are loc în plante. Pentru a confirma acest punct de vedere a făcut şi un calcul. "… Poţi cultiva 3000-4000 de specii de plante diferite pe 7-8 livre de sol (livra- 452 g)…Acum: dacă seva, uleiurile şi mineralele sunt diferite în fiecare dintre speciile de plante, atunci toate acestea ar trebui să fie conţinute în această mică cantitate de sol şi în apa de ploaie. Este clar că aşa ceva este imposibil. Dacă fiecare dintre aceste specii de plante, la momentul maturării conţin cel puţin o sare fixată şi două din sol şi dacă toate acestea se adaugă celor dizolvate în apă, aceasta ar creşte cu circa 2-3 ori masa fiecărei specii de plante, însemnând că cele 4000 de specii de plante ar însuma o masă de 500 livre".

J. **Woodward** (1665-1728) a pus o plantă într-un vas cu apă şi a acoperit suprafaţa apei, aşa încât apa se putea elibera doar prin intermediul plantei. Astfel, el a descoperit că pe parcursul a trei luni, planta a emis de 46 de ori cantiatea de apă pe care ea o stochează în corpul său. Asemenea tip de experiment a fost perfectat de **S. Hales** (1677-1761), fizician şi filozof englez, care a indicat de asemenea importanţa hidrostaticii, în privinţa explicaţiilor ascensiunii sevei brute. El a determinat conexiunea dintre puterea presiunii sevei şi transpiraţie şi a introdus cântarul, ca un nou dispozitiv pentru experimente, stabilind astfel o legătură cu fizica. A încercat ca prin compararea maselor, să determine perioada de timp dintre absorbţia apei şi eliminarea sa prin transpiraţie şi a folosit aceste rezultate pentru a calcula viteza de transport a apei prin plantă. Apariţia lucrării "*Vegetable Statics*" (*1727*) (în care sunt prezentate 124 de experienţe proprii cu privire la circulaţia sevei, transpiraţia şi nutriţia plantelor) marchează **momentul când fiziologia plantelor se impune ca ştiinţă.**

Examinarea substanţelor din plante, în special a acizilor a făcut progrese graţie cercetărilor lui C.W. **Scheele** (1742-1786), cercetări începute în anii 1770 şi ale lui F. Vanquelin, care şi-a început astfel de studii la sfârşitul secolului al XVIII-lea. Prin intermediul lor au devenit bine cunoscuţi acidul tartric, acidul citric, acidul malic, acidul oxalic şi acidul galic. De asemenea, A.S. Markgraf (1709-1782) şi D. de Monceau (1700-1781) au analizat cenuşa plantelor şi au identificat un număr de săruri. Totodată, Markgraf a fost primul care a folosit microscopul, ca un mijloc pentru chimia analitică (cristale de zahăr în secţiunile de rădăcini uscate). S.F. Hermstaedt (1760-1833) a introdus analiza chimică, ca mijloc de caracterizare a plantelor folositoare. A evidenţiat semnificaţia fermentaţiei şi deteriorării. De asemenea, J.J.Berzelius (1779-1848) a listat pe parcursul primei jumătăţi a secolului al XIX-lea, mai mult de 40 de compuşi diferiţi izolaţi din plante.

J. Priestley (1733-1804) (chimist englez) a precizat că **aerul este pentru viaţa plantelor la fel de necesar, ca şi pentru viaţa animalelor**, dar plantele, spre deosebire de animale au proprietatea de a *purifica* aerul viciat de respiraţia vieţuitoarelor sau prin diferite arderi. Cel mai faimos experiment (efectuat în jurul anilor 1772) a demosntrat că o lumânare se va stinge imediat, dacă se plasează într-un clopot de sticlă, dar va arde din nou în acelaşi mediu, dacă în vas se va lăsa o plantă pentru câteva zile. Concluzia sa a fost că planta a împrospătat aerul, care a fost viciat prin arderea lumânării. De asemenea, Priestley a concluzionat că un şoarece plasat sub clopotul de sticlă va vicia aerul, în aceeaşi manieră precum a făcut-o lumânarea şi că aerul poate fi respirat după ce a fost împrospătat. Aceasta a condus la conceptul că respiraţia şi fotosinteza sunt procese opuse. A ţinut un şoarece într-un clopot de sticlă cu aer, până el a murit. Dacă însă şoarecele a fost ţinut sub clopot împreună cu o plantă, el a supravieţuit. Priestley este cel care a descoperit substanţa, care mai târziu a fost denumită oxigen, de către chimistul francez Antoine Laurent Lavoisier.

J.I. Ingenhousz (1730-1799) (fiziolog olandez) a determinat în anul *1778* că plantele absorb CO_2 şi eliberează O_2, când sunt expuse la lumină şi este primul care a definit procesul de fotosinteză. El a făcut distincţia între fotosinteză şi respiraţie, precizând că numai plantele verzi au proprietatea de a purifica aerul viciat şi că aceasta se întîmplă numai în prezenţa luminii (la întuneric, plantele verzi asemenea altor vieţuitoare, elimină CO_2 şi absorb O_2). Iată deci, este momentul conturării fotosintezei şi respiraţiei ca două procese fundamentale ale vieţii plantelor şi totodată al afirmării importanţei pigmenţilor asimilatori. Greşeala lui Ingenhousz a fost că a crezut că oxigenul eliberat de către plante derivă din dioxidul de carbon. Apoi, fizicianul german J.R. Mayer a formulat conceptul că energia a fost transformată din energie luminoasă, pentru a produce noi substanţe chimice.

În anul *1791*, **J. Senebier** (1742-1809) a publicat lucrarea Physiologie végétale, lucrare în care tratează nutriţia minerală a plantelor. De asemenea, împreună cu Th.de Saussure (1767-1845) a studiat influenţa luminii şi schimburile de gaze.

R.H.J. Dutrochet (1776-1847) a descoperit osmoza, a explicat modul de determinare a presiunii osmotice la soluţii, a definit turgescenţa, imbibiţia şi transportul sevei brute.

Bazele nutriţiei minerale a plantelor au fost puse tot în cadrul secolului al XIX-lea. În anul 1838, Academia de ştiinţe din Göttingen a oganizat o competiţie, întrebarea fiind: "…dacă ceea ce numim element anorganic, care poate fi găsit în cenuşa plantelor poate fi găsit şi în plante, chiar dacă el nu a fost oferit ca nutrient şi dacă aceste elemente sunt părţi aşa de importante ale organismului plantei, aşa încât acestea chiar nu pot creşte fără ele". Câştigătorul competiţiei a fost chimistul **Justus v. Liebig** (1803-1873), cu lucrarea sa "Die organische Chemie in ihrer Anwendung auf Agricultur und Physiologie" (Chimia Organică şi Utilizarea ei în Agricultură şi Fiziologie). El a fost apreciat pentru determinările sale în ceea ce priveşte folosirea metodelor chimice, pentru a răspunde la întrebări legate de nutriţia plantelor. A examinat conexiunile dintre recoltă şi cantitatea de îngrăşăminte aplicată plantelor şi de asemenea a recunoscut importanţa compuşilor minerali făcuţi disponibili plantelor prin descompunerea materialelor de origine animală şi vegetală. Pe baza unor experimente, Liebig a precizat că principalele elemente necesare plantelor sunt C, H, O şi N, elemente disponibile în abundenţă, aşa încât suplimentarea lor nu a fost necesară. Totodată, a precizat că humusul nu scade dintr-un sol acoperit cu vegetaţie, ci, dimpotrivă sporeşte, ceea ce infirmă definitiv concepţia lui A. Thäer. După sursa de carbon folosită, Liebig a împărţit plantele în autotrofe şi heterotrofe şi a indicat unele metode adecvate pentru cercetarea nutriţiei minerale a plantelor.

Fiziologia plantelor a fost introdusă pentru prima oară ca disciplină separată de botanică, în anul 1849 la Universitatea din Viena, apoi în toate marile centre universitare din Europa.

A doua jumătate a secolului al XIX-lea a reprezentat *perioada afirmării cercetărilor fitofiziologice*. În acest sens, se pot aminti: cercetările efectuate de J.B.D. *Boussingault* (1802-1887), chimist şi agronom francez, care a introdus metoda culturilor experimentale în studiul nutriţiei minerale; J. *Sachs* (1832-1897), fiziolog german, care a publicat un tratat de fiziologie vegetală în anul 1865, tratat care cuprindea rezultate ale experienţelor proprii, cu privire la diferite procese fiziologice la plante; W. *Pfeffer* (1865-1920) a efectuat cercetări privind osmoza,

fotosinteza, absorbţia apei, precum şi transportul sevei elaborate; K.A. *Timireazev* (1843-1920) a efectuat cercetări privind fotosinteza şi a evidenţiat rolul fundamental al clorofilei în procesul de fixare a energiei solare, respectiv rolul ei cosmic, de a realiza legătura dintre astrul ceresc şi pământ.

Secolul al XX-lea a reprezentat *epoca fiziologiei aplicative*.

S-au efectuaat *cercetări cu privire la nutriţia plantelor* şi s-au stabilit reţete pentru soluţii nutritive (V.D. Crone - 1902; H. Cranner - 1922; D. Hoagland - 1948). S-au studiat microorganismele fixatoare de azot molecular (M. Beijerinck - 1901; S. Vinogradski - 1889). S-au indicat condiţiie cele mai favorabile pentru asimilarea azotului.

Au fost descoperiţi stimulatorii de creştere (auxinele), graţie cercetărilor lui A. Paul (1914), F.Went; N.G. Holodnîi şi F. Kögl. Ulterior, cercetările efectuate şi rezultatele obţinute în ce priveşte utilizarea substanţelor bioactive au condus la noi descoperiri, respectiv descoperirea giberelinelor, citochininelor, retardanţilor etc.

De asemenea, au luat amploare cercetările privind influenţa factorilor de stres şi rezistenţa plantelor la acţiunea acestora (N.A. Maksimov, S.N. Ivanov, J. Levitt, K. Höffler etc.); cercetările legate de înflorirea şi fructificarea plantelor (V.S. Klebs - 1912; G. Gassner; W.W. Garner; H.A. Allard - 1920); studiile în privinţa hormonilor implicaţi în procesul înfloririi (H. Chailakhyan - 1937; S.H. Wittwer, A. Lang - 1959; J Bonner - 1963; C. Nitsch - 1968.

Totodată, s-a acordat atenţie deosebită cercetărilor fundamentale, precum cele legate de elucidarea mecanismului fotosintezei (M. Calvin, D. Arnon, A. Benson), mecanismului respiraţei (A.N. Bach, O. Warburg), modului de acţiune al stimulatorilor (K.V. Thimann, A. Vegis, A.C. Leopold, P.E. Pilet) cât şi celor referitoare la absorbţia substanţelor minerale (H. Lundegärdh, D. Hoagland, P. Kramer, J. Suteliffe, H. Jenny).

În secolul XXI, proteomica celulelor plantelor a devenit o tehnologie care asigură informaţii asupra genomicii funcţionale, determinând localizarea subcelulară a proteinelor, identificarea componentelor unui complex proteic multifuncţional şi identificarea a noi componente implicate în metabolismul celulei vegetale.

Prima diferenţă majoră dintre genom şi proteom este aceea că genomul este static, în timp ce proteomul celulelor vii este dinamic, aşa încât intervin modificări ca răspuns la starea metabolică individuală a celulei şi la recepţia moleculelor semnal, de natură intracelulară şi extracelulară. Prin urmare, analiza proteinelor reprezintă cea mai directă procedură pentru abordarea dinamicii metabolismului celulei vegetale.

1.2.2. Fiziologia plantelor în România

În România, fiziologia plantelor a fost **fondată în anul 1907** de către *E.C. Teodorescu* (1866- 1949), titular al primei catedre de Anatomie şi Fiziologie vegetală, în cadrul Universităţii din Bucureşti, până în anul 1935. E.C. Teodorescu şi-a făcut studiile la Paris şi a obţinut doctoratul la fiziologul francez G. Bonnier, la Sorbona. A fost un savant de renume mondial, fiind înscris în anul 1966 printre personalităţile de seamă sărbătorite la UNESCO. Printre deosebitele sale contribuţii ştiinţifice se pot aminti: influenţa radiaţiilor luminoase asupra creşterii, asupra formei şi structurii plantelor; circulaţia substanţelor organice prin liber; mişcările plantelor volubile la lumină şi la întuneric etc.

Sub directa coordonare a lui E.C. Teodorescu s-au format noi personalităţi ale fiziologiei vegetale româneşti şi ulterior creatori de şcoală, atât în învăţământ cât şi în cercetare. Merită a fi menţionaţi: P. Stănescu, care a studiat acumularea produşilor fotosintezei în timpul zilei, în condiţii diferite; C.T Popescu, care împreună cu E.C. Teodorescu a studiat ţesutul liberian şi rolul său în transportul substanţelor organice (1915); Ş. Popescu a studiat zona de absorbţie la nivelul rădăcinilor.

În anul **1912**, la *Universitatea din Iaşi* a început predarea fiziologiei ca disciplină separată, de către I.C. *Constantineanu* (1869-1931), iar din anul **1919** fiziologia s-a predat şi la *Cluj*, de către I. *Grinţescu*. Grinţescu a cercetat morfologia şi fiziologia algelor verzi, precum şi mişcările la leguminoase. De asemenea, tot la Cluj o activitate deosebită a fost depusă de acad. Prof. E.Pop, cu

contribuţii deosebite în ceea ce priveşte curenţii citoplasmatici la plantele submerse, absorbţia zincului în seminţe şi cariopse, pe baza folosirii izotopilor radioactivi etc. În cadrul aceleiaşi universităţi, Ş. Peterfi şi-a adus contribuţii la dezvoltarea fiziologiei stimulatorilor de creştere, la studiul dinamicii vitaminei C la specii de plante aparţinând la familii diferite, la studiul dinamicii glucidelor la viţa de vie etc.

Începând din anul 1938, *fiziologia vegetală a devenit disciplină de sine stătătoare şi obligatorie pentru tot învăţământul biologic universitar.*

Cercetările efectuate în cadrul catedrelor de fiziologie vegetală, a institutelor de cercetări de biologie şi agricole, a staţiunilor experimentale au condus la dezvoltarea continuă a fiziologiei vegetale din ţara noastră, precum şi la realizarea conexiunilor dintre cunoştinţele teoretice şi activitatea practică.

1.3. Raporturile fiziologiei plantelor cu alte ştiinţe

Fiziologia plantelor este o ştiinţă cu un caracter teoretic, dar şi aplicativ. Având în vedere complexitatea proceselor vitale specifice plantelor, sunt necesare o serie de cunoştinţe din alte domenii ale biologiei.

Fiziologia plantelor are legături cu fiziologia animală, deoarece multe procese fiziologice sunt caracterizate prin mecanisme fizice şi biochimice comune. Având în vedere legătura strânsă între structură şi funcţie, fiziologia plantelor are relaţii cu morfologia şi anatomia plantelor. Biochimia şi biofizica pun la dispoziţia fiziologiei plantelor metode de cercetare a unor procese fiziologice la nivel molecular. Pentru înţelegerea interrelaţiei dintre organism şi mediu, ecologia asigură cunoştinţele necesare. La rândul lor, genetica şi ameliorarea plantelor se bazează pe cunoaşterea proceselor fiziologice şi a particularităţilor metabolice ale soiurilor. Agrochimia permite înţelegerea relaţiei plantă-sol, în ceea ce priveşte procesele de nutriţie minerală şi de utilizare corespunzătoare a îngrăşămintelor, în vederea obţinerii unor producţii mari, de calitate superioară şi profitabile din punct de vedere economic.

Pentru disciplinele de specialitate (legumicultură, pomicultură, viticultură, floricultură, fitotehnie etc.), fiziologia plantelor reprezintă baza teoretică. Ea poate fi considerată asemenea mecanicii fine pentru industrie.

De asemenea, microbiologia şi fitopatologia utilizează cunoştinţe de fiziologie a plantelor. Spre exemplu, reacţia de răspuns a plantelor la acţiunea agenţilor biotici de stres este explicată şi interpretată pe baza mecanismelor fiziologice specifice.

Totodată, pentru calculul şi interpretarea rezultatelor obţinute în urma cercetărilor de fiziologie a plantelor, un rol deosebit revine matematicii şi statisticii. De asemenea, sunt deosebit de utile cunoştinţelor privind utilizarea calculatorului.

Fiziologia plantelor oferă rezultate pentru fundamentarea tehnologiilor de producţie, dar totodată beneficiază de aportul de cunoştinţe pe probleme practice. În urma experimentelor specifice, se pot oferi răspunsuri la aceste probleme. Prin urmare, priorităţile cercetării în domeniul ştiinţelor agricole reprezintă în acelaşi timp obiective prioritare ale cercetărilor în domeniul fiziologiei plantelor.

1.4. Metode de cercetare utilizate în fiziologia plantelor

Metodele de bază utilizate în cadrul cercetărilor de fiziologia plantelor sunt *observaţia* şi *experimentul*. De altfel, fiziologia plantelor este o ştiinţă cu un profund caracter experimental.

Experienţa este realizată în condiţii dirijate de către om, după reguli stabilite anterior (în condiţii de laborator, în casa de vegetaţie, ori în câmp), iar lucrările trebuie astfel organizate, încât studiile privind procesele fiziologice să fie efectutate raportat la factorul modificat. Printr-o asemenea metodă se pot stabili condiţiile favorabile pentru creşterea şi dezvoltarea plantelor, respectiv condiţiile nefavorabile.

Desigur, rezultatele experienţelor de laborator trebuie să fie verificate în condiţii de câmp, deci în condiţii naturale, unde intervin numeroşi factori, care nu pot fi controlaţi în totalitate.

Observaţia presupune cercetarea plantelor în condiţiile naturale de viaţă şi efectuarea unui număr suficient de determinări. Existenţa unei legături cauză-efect este demonstrată de repetarea unui anume fenomen, în aceleaşi condiţii date.

Ca **procedee tehnice de laborator** se folosesc în mare măsură metode fizico-chimice.

Rezultatele obţinute sunt prelucrate statistic, cu scopul interpretării corecte a acestora şi formulării concluziilor cu caracter general.

CAPITOLUL 2

FIZIOLOGIA CELULEI VEGETALE

Cuvinte cheie: *celula vegetală, proprietăţi fiziologice, perete celular, plasmalemă, tonoplast, citosol, citoschelet, sistem de endomembrane, ribozomi, plastide, mitocondrii, nucleu, vacuomul celular*

Obiective

- descrierea sumară a principalelor proprietăţi fiziologice ale celulei vegetale;
- descrierea rolului fiziologic al componentelor celulei vegetale, în relaţie cu structura şi compoziţia chimică a acestora;

REZUMAT

Celula vegetală reprezintă unitatea morfologică, structurală şi funcţională de bază a plantelor. Principalele proprietăţi fiziologice ale celulei vegetale sunt: metabolismul (cu cele două laturi ale sale: anabolism şi catabolism), creşterea, dezvoltarea, sensibilitatea şi excitabilitatea, mişcarea, adaptabilitatea, ereditatea şi moartea. Componentele de bază ale celulei vegetale eucariote sunt: peretele celular (peretele celular primar, peretele celular secundar, lamela mediană, plasmodesmele) şi protoplastul (citoplasma, nucleul, vacuomul celular şi substanţele ergastice). Funcţiile fiziologice ale componentelor celulare sunt în strânsă interrelaţie cu particularităţile structurale şi compoziţia chimică a acestora.

Celula vegetală *reprezintă unitatea morfologică, structurală şi funcţională de bază a plantelor (fig.2.1.).* Cunoaşterea particularităţilor structurale şi a rolului fiziologic al componentelor celulare reprezintă o etapă primordială în vederea înţelegerii şi interpretării proceselor fiziologice, care se desfăşoară la nivelul plantei întregi.

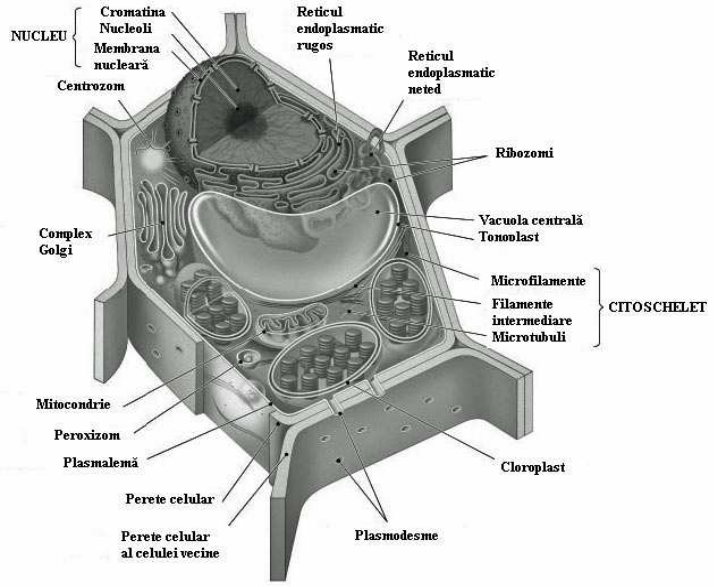


Fig. 2.1. Principalele componente structurale ale celulei vegetale

2.1. Proprietăţile fiziologice ale materiei vii

Celulele, precum şi plantele întregi sunt organisme vii, care se caracterizează prin următoarele proprietăţi fiziologice:

►**Metabolismul** reprezintă *totalitatea reacţiilor de schimb de substanţe, energie şi informaţii dintre celula vegetală şi mediul înconjurător, precum şi totalitatea transformărilor care se petrec în celula vie*. Prin urmare, celulele constituie un sistem deschis, dinamic, aflat într-un permanent schimb de substanţă, energie şi informaţie cu mediul şi care tind către un echilibru termodinamic, fără însă a se ajunge la el. În cadrul metabolismului se disting două laturi contradictorii:

anabolismul şi *catabolismul*. Anabolismul reprezintă totalitatea reacţiilor de biosinteză a substanţelor proprii organismului, reacţii care se realizează cu consum de energie metabolică. Catabolismul constă în totalitatea reacţiilor de biodegradare a substanţelor de rezervă, conducând la producerea de energie. Cele două laturi ale metabolismului alcătuiesc o unitate dialectică. În cursul ontogenezei, raportul dintre cele două laturi ale metabolismului se modifică. În faza de tinereţe a plantelor predomină anabolismul (ceea ce explică şi procesul de creştere al organelor tinere), la maturitate se înregistrează un echilibru dinamic între cele două laturi (durata stării de echilibru variază cu specia de plantă), iar în faza de senescenţă predomină catabolismul.

► **Creşterea** este un proces cantitativ, complex, ireversibil, care constă în sporirea numărului de celule, a masei şi a volumului acestora.
► **Dezvoltarea** este un proces calitativ, care constă în parcurgerea fazelor de tinereţe, maturitate şi senescenţă şi realizarea capacităţii de reproducere, asigurându-se perpetuarea speciei.
► **Sensibilitatea şi excitabilitatea** reprezintă proprietăţi ale materiei celulare vii, de a percepe acţiunea factorilor din mediul ambiant şi de a răspunde în mod specific.
► **Mişcarea** este o proprietate de bază a materiei vii, dar şi a plantei ca organism. Prin desfăşurarea proceselor de creştere în mod flexibil, plantele răspund condiţiilor mediului ambiant.
►**Adaptabilitatea** reprezintă însuşirea celulelor vii de a-şi modifica structura şi metabolismul, în raport cu factorii de mediu, ceea ce le permite supravieţuirea în condiţii de stres.
► **Ereditatea** reprezintă proprietatea materiei vii de a transmite în mod fidel la descendenţi, caracterele specifice speciei.
►**Moartea** este o însuşire generală a organismelor vii, de altfel o consecinţă firească a vieţii, care survine odată ce metabolismul încetează.

2.2. Principalele particularităţi structurale ale celulei la plantele superioare şi rolul fiziologic al componentelor celulare

Prezentarea principalelor particularităţi structurale ale celulei vegetale eucariote şi a rolului fiziologic al acestora va avea în vedere structurarea redată în *tabelul 2.1*.

Tabelul 2.1.

Principalele părţi componente ale celulei vegetale eucariote

PERETELE CELULAR	- peretele celular primar - peretele celular secundar - lamela mediană - plasmodesmele
PROTOPLASTUL A) *Citoplasma*	= *conţinutul celular* (exclusiv peretele celular) 1) Membrana citoplasmatică = Plasmalema 2) Citosolul 3) Citoscheletul 4) Sistemul de endomembrane (reticulul endoplasmatic, complexele Golgi, membrana nucleară, membrana vacuolară, microveziculele) 5) Ribozomi 6) Plastide 7) Mitocondrii
B) *Nucleul*	a) Nucleoplasma b) Cromatina c) Nucleoli
C) *Vacuomul*	
D) *Substanţe ergastice*	- cristale de oxalat de calciu, taninuri etc. - grăunciori de amidon în amiloplaste şi cloroplaste

2.2.1. Peretele celular

Peretele celular reprezintă învelişul exterior al celulei, o reţea fibrilară puternică, care dă fiecărei celule forma sa stabilă.

Principalele întrebări care se pun sunt următoarele:

▪ care sunt structurile care alcătuiesc polimerii care intră în structura peretelui celular ?
▪ cum sunt fabricaţi aceşti polimeri şi cum sunt depozitaţi în matrixul extracelular ?
▪ cum funcţionează peretele celular în cazul proceselor de creştere şi diferenţiere celulară ?
▪ care este interrelaţia dintre evenimentele extracelulare şi cele intracelulare; cum sunt reglate aceste relaţii ?

În urma studiilor efectuate prin microscopie electronică de mare rezoluţie, peretele celular a fost descris ca un complex de hidraţi de carbon şi proteine, secretate de celulă. El apare a fi un matrix continuu, care se constituie ca o schelă şi un substrat pentru celule într-un ţesut. O interpretare mai simplă este aceea că peretele celular constă dintr-o dispunere ordonată a microfibrilelor de celuloză, îmbrăcate în hemiceluloză. Acest matrix este fixat într-un gel de pectine şi undeva în acest aranjament se găsesc proteine. De asemenea, ligninele şi alţi polimeri organici asigură rezistenţa şi rigiditatea peretelui celular.

Cercetările bazate pe tehnica spectroscopiei în infraroşu au permis realizarea amprentei compoziţiei peretelui celular (Bonetta şi al., 2002).

2.2.1.1. Formarea peretelui celular şi componentele acestuia

Peretele celular constă din *trei straturi*:

1) - *lamela mediană*: primul strat format în timpul diviziunii celulare şi alcătuit în principal din compuşi pectici;
2) - *peretele celular primar*: format după lamela mediană şi constă dintr-un schelet rigid al microfibrilelor de celuloză, îmbrăcate într-un material asemenea unui gel, compuşi pectici şi glicoproteine;
3) - *peretele celular secundar*: format după ce creşterea celulei s-a încheiat; extrem de rigid; alcătuit din celuloză, hemiceluloză şi lignină.

Peretele celular se formează în timpul diviziunii celulare, din fragmoplast (*fig. 2.2.*).

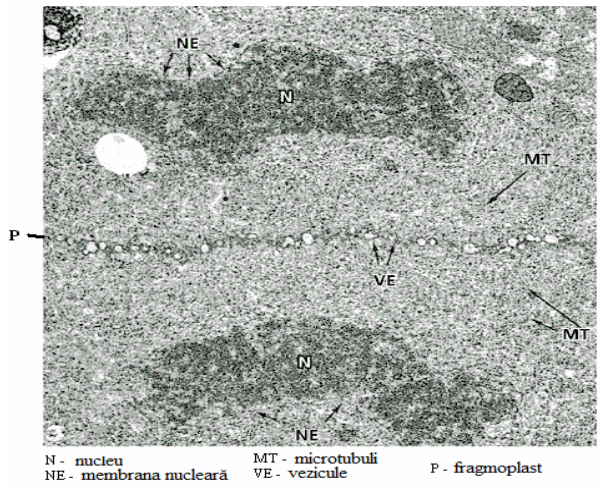


Fig. 2.2. Formarea fusului de diviziune

Fragmoplastul (sub forma unui disc) se formează la mijlocul celulei care se divide, în cursul telofazei şi constă din o masă citoplasmatică (proplastide, promitocondrii, canalicule ale reticulului endoplasmatic, vezicule golgiene, ribozomi liberi). De asemenea, în fragmoplast se remarcă şi microtubuli, care contribuie la orientarea deplasării veziculelor provenite din complexul Golgi. Veziculele golgiene pun în libertate acizii galacturonici, care ulterior prin legături 1,4- α-glicozidice vor forma acizii poligalacturonici. Aceştia intră în alcătuirea substanţelor pectice, sub formă de geluri, din care se formează apoi **lamela mediană**.

Lamela mediană reprezintă liantul dintre celulele ţesuturilor, practic interfaţa dintre pereţii celulari primari ai celulelor vecine.

Membranele veziculelor golgiene, precum şi cele formate prin biosinteza de novo se unesc şi formează plasmalema.

Ulterior formării plasmalemei, printr-un proces de exopinocitoză, substanţele sunt eliberate în spaţiul extraplasmatic (între plasmalemă şi lamela mediană), realizându-se biosinteza peretelui celular primar şi a peretelui celular secundar (în anumite cazuri).

Pentru dicotiledonate sunt descrise cinci componente de bază ale peretelui celular, în următoarele procente aproximative : 1. celuloză (circa 30% din masa uscată a peretelui celular); 2. hemiceluloză (circa 30%); 3. pectine (circa 35%); 4. proteine (circa 1-5%) şi 5. apă (circa 75%). De asemenea, calciul este considerat cel de-al şaselea component, dar el se află în cantităţi cu adevărat neglijabile, comparativ cu primele 5.

Peretele celular primar constă din 9%-25% celuloză (moleculele fiind asamblate în fibre cilindrice lungi, numite microfibrile); 25%-50% hemiceluloze; 10%-35% substanţe pectice; 10% proteine (*fig. 2.3.*) (Cosgrove, 2005). El este caracteristic celulei vegetale. Celulele tinere în creştere, unele celule de depozitare, celulele fotosintetizante din frunze, toate celulele parenchimatice şi alte tipuri de celule nu au decât perete celular primar.

Peretele celular secundar constă din circa 41%-45% celuloză, 30% hemiceluloză şi în unele cazuri 22%-28% lignină. El are de obicei o grosime mai mare decât peretele celular primar şi constă în materialul depozitat între peretele celular primar şi plasmalemă, odată ce creşterea celulei a încetat. Peretele celular secundar este caracteristic spre exemplu celulelor care alcătuiesc xilemul şi contribuie la prevenirea colapsului, care s-ar putea produce datorită presiunii exercitate de celulele vecine, pline cu lichid aflat sub presiune. Uneori se formează *peretele celular terţiar*.

Peretele celular primar şi secundar diferă în ceea ce priveşte lignificarea. Peretele celular primar nu este lignificat, este subţire şi elastic. Pereţii celulari secundari şi terţiari sunt lignificaţi. Peretele celular primar nu are perforaţii, în timp ce peretele celular secundar are numeroase perforaţii, respectiv suprafeţe subţiri în peretele celular formate în perechi, pe fiecare parte a lamelei mediane, care separă celulele vecine.

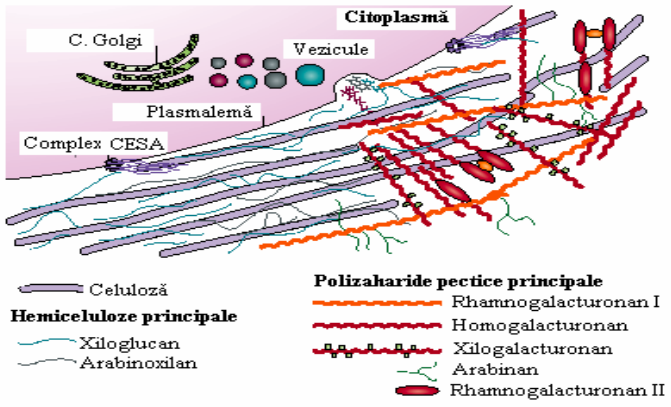


Fig. 2.3. Structura peretelui celular primar (după Cosgrove, 2005)

Peretele celular este străbătut transversal de extensii tubulare ale plasmalemei, cu diametrul de circa 50 nm, denumite **plasmodesme** de către Strasburger în 1901. Acestea reprezintă de fapt punţi citoplasmatice între celule (*fig. 2.4.*). Conexiunile astfel formate constituie **simplastul**, iar transportul prin plasmodesme este denumit *transport prin simplast*.

Fig. 2.4. Aspectul plasmodesmelor din peretele celular în secţiune longitudinală

● *Plasmodesmele primare* se formează în timpul diviziunii celulare, în zona fragmoplastului şi sunt firişoare citoplasmatice intercelulare înconjurate de plasmalemă (*fig. 2.5.*). Componenta centrală este reticulul endoplasmatic, iar zona dintre plasmalemă şi partea de reticul endoplasmatic este denumită „annulus". Termenul de desmotubul este înlocuit cu denumirea – „appressed ER protein complex" (AERPC sau AER). Plasmodesmele, reticulul endoplasmatic şi membrana nucleului constituie un sistem membranal continuu. Deplasarea intercelulară a moleculelor mici are loc prin micro-canale create între proteinele globulare ale AERPC şi plasmalemă. Micro-canalele au un diametru de circa 2,5 nm.

● *Plasmodesmele secundare* se formează post- citochineză, transversal pereţilor celulari existenţi deja. Plasmodesme secundare se pot forma pe parcursul ciclului de dezvoltare normală a plantei, precum şi în cazul unor sisteme speciale (altoiri, interacţiuni gazdă-patogen etc.). Spre exemplu, în mugurii şi florile tinere de *Setcreasea purpurea*, mărimea limită de funcţionalitate (SEL) a perilor staminali este mai mică de 1000 Daltoni, în timp ce în florile senescente, SEL este mai mare decât 4,4 kDa. SEL creşte de asemenea sub acţiunea unor stimuli din mediu. În lipsa oxigenului sporesc SEL în rădăcinile de grâu, iar stresul osmotic creşte SEL în rădăcini de mazăre. Studiile efectuate au permis introducerea conceptului de conductanţă a plasmodesmelor.

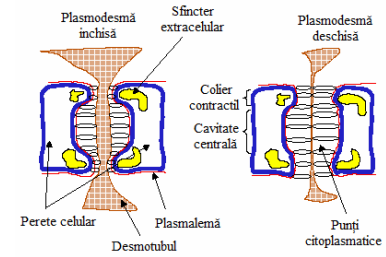


Fig. 2.5. Reprezentarea unui model de structură a plasmodesmei

Plasmodesmele sunt structuri dinamice, care se pot deschide sau închide, pe măsura maturării ţesutului vegetal. Structura internă complexă este critică pentru reglarea traficului moleculelor. Pe măsură ce frunzele progresează de la importator net de foto-asimilate, către exportator net de foto-sintetizate, frecvenţa plasmodesmelor simple (care constau într-un singur canal) scade, în timp ce frecvenţa plasmodesmelor ramificate creşte. De asemenea, cercetările au demonstrat că plasmodesmele se pot afla sub trei conformaţii de bază: închise, deschise şi dilatate (Crawford şi Zambruyski, 2000).

Producerea şi depozitarea constituenţilor peretelui celular

► *Sinteza celulozei* şi a *polizaharidelor matrixului* se realizează pe căi distincte. La sfârşitul anilor 1990, prin studii moleculare şi genetice s-au identificat genele *celulozo-sintazei* (*CESA*). Proteinele *CESA* sunt localizate la nivelul plasmalemei, în hexameri sub formă de rozete (*fig.2.6.*). În cazul plantelor model – *Arabidopsis thaliana*, familia CESA constă din 10 gene, care se exprimă în diferite tipuri de celule şi ţesuturi. Spre exemplu, *CESA 1*, *CESA 3* şi *CESA 6* sunt necesare pentru biosinteza peretelui celular primar, iar *CESA 4*, *CESA 7* şi *CESA 8* sunt necesare pentru formarea peretelui celular secundar.

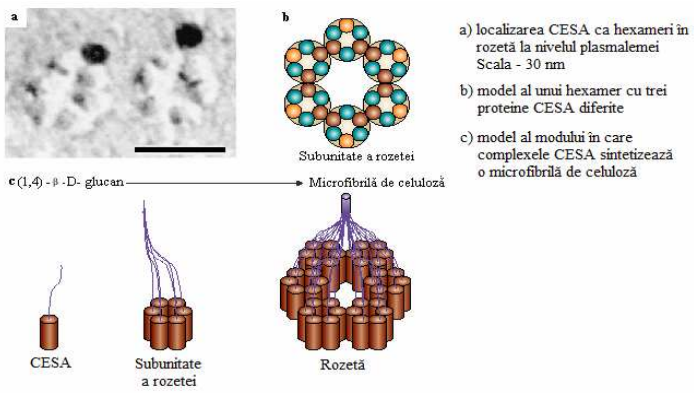

a
b
a) localizarea CESA ca hexameri în rozetă la nivelul plasmalemei Scala - 30 nm
b) model al unui hexamer cu trei proteine CESA diferite
c) model al modului în care complexele CESA sintetizează o microfibrilă de celuloză
Subunitate a rozetei
c (1,4) - β - D- glucan
Microfibrilă de celuloză
CESA
Subunitate a rozetei
Rozetă

Fig. 2.6. Sinteza celulozei prin intermediul CESA

Prin intermediul celulozo-sintazelor, care se deplasează în bistratul de fosfolipide se formează microfibrilele celulozice (lanţuri de 1,4-β-D-glucan) cu o grosime de 3-5 nm şi mulţi µm lungime. Modificarea poziţiei microtubulilor schimbă şi direcţia de depunere a microfibrilelor. CESA sunt asociate şi cu zaharozo-sintaza citoplasmatică, prin a cărei activitate se asigură glucide pentru sinteza polimerului.

► *Substanţele pectice* şi *hemiceluloza* sunt sintetizate în sistemul de endo-membrane şi secretate prin intermediul acestuia, urmând a se realiza complexul cu celuloza, în matrixul extracelular (*fig. 2.7.*).

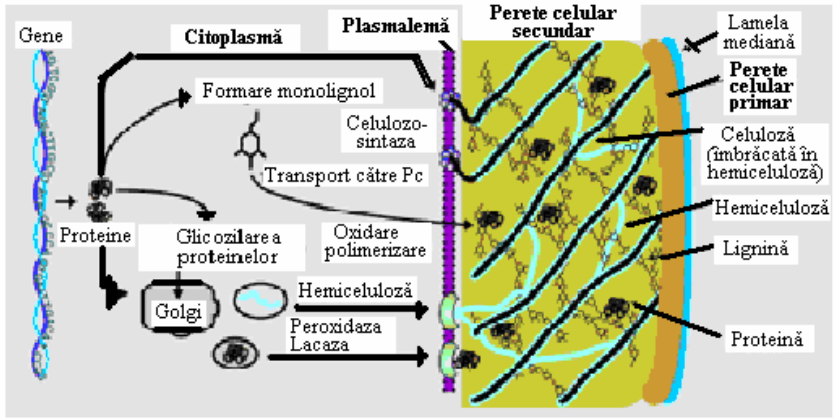


Fig. 2.7. Producerea şi depozitarea constituenţilor peretelui celular

Microfibrilele celulozice sunt legate împreună prin interacţiuni ne-covalente cu polizaharidele matrixului, ceea ce determină multe dintre proprietăţile fizice ale peretelui celular.

Denumirea de hemiceluloză se foloseşte pentru a descrie o familie de polimeri bogaţi în glucoză, xiloză şi arabinoză. Spre deosebire de celuloză, aceştia au lanţuri lungi, care includ adesea xiloză, galactoză sau fucoză.

Substanţele pectice sunt o familie de acizi poligalacturonici, alcătuiţi în general din arabinoză, galactoză sau un complex de monozaharide şi formează un gel. Sunt puternic metil esterificate când sunt depozitate, ceea ce le face rezistente la hidroliză şi relativ nereactive cu calciul din peretele celular şi cu alţi ioni. După depunere, pectina este de-esterificată prin intermediul pectin metil esterazei (PME), redându-i o sarcină negativă. Aceasta îi permite să formeze configuraţii rigide şi să se lege eficient de calciu. Este totodată susceptibilă la modificare, prin intermediul enzimelor hidrolitice de tip poligalacturonaze (PGs).

► *Proteinele* prezente în pereţii celulari au fost clasificate astfel:

● *proteine structurale*, grupate în funcţie de aminoacidul predominant: glicoproteinele bogate în hidroxi-prolină (HRGP), proteine bogate în prolină (PRP) şi proteine bogate în glicină (GRP). Multe dintre acestea sunt puternic glicozilate. Extensina este una dintre HRGPs cel mai bine studiată. Ea conţine serină, tirozină şi lizină.

● *proteine nestructurale*: din clasa proteinelor arabinogalactanilor (AGPs), solubile în apă şi foarte puternic glicozilate. AGPs funcţionează în procesele de adeziune celulară, semnalizare celulară. Pe lângă acestea, pot fi incluse numeroase enzime, care de altfel au un rol deosebit în procesul de extensie celulară. Spre exemplu, acestea determină hidroliza enzimatică a polizaharidelor matrixului.

► *Apa* este adesea ignorată ca şi componentă a peretelui celular, deşi este un solvent, lubrifiant şi determină concentraţia componentelor în peretele celular. Totodată, hidratarea determină porozitatea peretelui celular.

Creşterea peretelui celular

Formarea peretelui celular primar este în general însoţită de începutul celei de-a doua etape de creştere celulară, respectiv extensia sau elongaţia celulară (vezi Cap. 9.).

În legătură cu **extensia peretelui celular** au fost descrise recent *patru mecanisme moleculare*, iar agenţii implicaţi s-au prezentat a fi: expansina, xiloglucan endotrans-glicolaza/hidrolaza, endo- (1,4) β-D-glucanaza şi radicalii hidroxil. Se pun în discuţie două clase de agenţi ai relaxării peretelui celular:

► <u>agenţi primari,</u> care catalizează direct relaxarea peretelui celular – „stress relaxation”-;

► agenţi secundari, care cauzează extensia peretelui celular indirect, prin amplificarea efectelor fizice ale agenţilor primari.

Prin experimente s-a stabilit că celulele cresc mai rapid când pH-ul peretelui celular este situat sub 5,5 (conform ipotezei creşterii acide) (Hager, 2003). Acidifierea activează activitatea expansinelor, care sunt agenţi primari ai relaxării peretelui celular (Cosgrove, 1997). Expansinele mediază extensia indusă acid, dar ele nu hidrolizează polizaharidele principale ale matrixului peretelui celular.

Peretele celular se caracterizează prin însuşirea de a creşte în suprafaţă (prin *intussuscepţiune*) şi în grosime (prin *apoziţie*).

Intussuscepţiunea constă în:

▪ transportul expansinelor dinspre citoplasmă, prin plasmalemă, către peretele celular;

▪ ruperea legăturilor de hidrogen dintre componentele peretelui celular, îndepărtarea moleculelor şi creşterea suprafeţei peretelui celular, ca urmare a presiunii de turgescenţă din celulă;

▪ refacerea legăturilor şi sinteza a noi substanţe care intră în structura peretelui celular, cu participarea activă a sintetazelor şi a auxinei.

Expansinele au fost iniţial identificate ca proteine pentru relaxarea peretelui celular. Studiile efectuate folosind plante transgenice au evidenţiat o serie de roluri biologice, în diferite aspecte ale creşterii şi dezvoltării, precum extensia peretelui celular, scăderea fermităţii fructelor, abscisie, dezvoltarea componentelor florale, simbioză şi răspunsul la acţiunea factorilor de stres (Choi şi al., 2006).

Apoziţia reprezintă depunerea de noi microfibrile celulozice şi lignine, pe faţa interioară a peretelui celular primar, formându-se peretele celular secundar. Depunerea moleculelor este centripetă şi uniformă, în cazul celulelor sclerenchimatice. Se realizează astfel procesul de apoziţie internă. La vasele lemnoase, apoziţia se realizează tot centripet, dar neuniform. La grăunciorii de polen însă, creşterea în grosime a peretelui celular are loc centrifug, prin apoziţie externă.

2.2.1.2. Modificări secundare ale peretelui celular

Cerificarea constă în depunerea de ceruri (amestec de ceride, adică esteri ai acizilor graşi şi a hidroxiacizilor cu 15-35 atomi de carbon, cu alcooli superiori care posedă 28-34 atomi de carbon; de asemenea, aceste substanţe conţin şi molecule libere de acizi graşi, alcooli, cetone, hidrocarburi, aldehide etc.). Biosinteza precursorilor cerurilor are loc la nivelul celulelor epidermice. Urmează transportul lor la exteriorul acestor celule, prin ectodesme şi porii cuticulari. Transportul se face în stare dizolvată în substanţe volatile, iar la suprafaţa cuticulei, solvenţii se evaporă. Cerurile cristalizează şi în consecinţă se determină reducerea pierderilor de apă din ţesuturi, prin procesul de transpiraţie.

Cutinizarea constă în depunerea cutinei. Cutina conţine polimeri lipidici cu 16 şi 18 atomi de carbon şi cantităţi mici de compuşi fenolici. Se consideră că biosinteza cutinei se realizează pe suprafaţa exterioară a pereţilor celulari. Se folosesc monomeri formaţi în reticulul endoplasmatic neted şi transportaţi la exteriorul celulelor, în cadrul unor vezicule sau sub formă de picături.

Suberificarea constă în depunerea suberinei, pe faţa internă a pereţilor celulari ai epidermei şi ai endodermei. Aceasta este alcătuită dintr-un amestec complex de acizi graşi cu lanţul lung $–C_{16}$-C_{26} , acizi hidroxilaţi, acizi dicarboxilici şi alcooli cu lanţul lung. Ea diferă de cutină, prin cantitatea mai mare de acizi fenolici şi prin natura acizilor graşi. Suberina determină îngroşările lui Caspary de la nivelul celulelor eododermului sau impregnează celulele exterioare ale tuberculilor de cartof, în faza de maturitate. Suberificarea se realizează şi în cazul celulelor lezate mecanic, ceea ce contribuie la izolarea ţesuturilor atacate de microorganisme parazite, de cele sănătoase.

Lignificarea constă în impregnarea pereţilor celulari cu lignină, un polimer aromatic, sintetizat din aminoacidul fenilalanină. Se formează unităţi fenolice, ca parte integrantă a pereţilor celulari la plante, în special în traheide, fibre ale xilemului şi sclereide. Precursorii ligninelor sunt biosintetizaţi în citoplasmă. Sunt apoi transportaţi prin plasmalemă (prin pinocitoză), sub formă de glicozizi şi sinteza ligninelor se realizează la nivelul pereţilor celulari. Enzima cheie implicată în

sinteza precursorilor ligninelor este fenilalaninamoniuliaza (PAL). Polimerizarea acestora se realizează sub acţiunea polifenoloxidazelor, izoenzimelor peroxidazei şi prin intermediul lacazei.

Gelificarea constă în producerea în exces a substanţelor pectice, care în contact cu apa formează gome sau mucilagii. Procesul de gelificare se constată în mod frecvent la fructele de piersic.

Mineralizarea constă în impregnarea peretelui celular cu dioxid de siliciu (la plantele graminee, ciperacee, equisetacee etc.), săruri de calciu, carbonat şi mai rar sulfat (la unele plante lemnoase), ceea ce conferă o rezistenţă mecanică sporită.

2.2.1.3. Rolul fiziologic al peretelui celular

Peretele celular prezintă un rol deosebit:

► pentru viaţa celulei;
► pentru economie;
► pentru ecosistem.

În privinţa rolului fiziologic al peretelui celular pentru viaţa celulei, se pot menţiona următoarele:

1) - asigură forma celulei vegetale (constrânge rata şi direcţia de creştere a celulei);
2) - permite dezvoltarea presiunii de turgescenţă;
3) - asigură specializarea celulară (ex. colenchim, fibre, traheide, endoderm);
4)- este o structură dinamică (suferă modificări pe parcursul vieţii celulei, nu doar pe parcursul creşterii şi dezvoltării plantelor, dar şi în perioada post-maturare; prin descompunerea enzimatică a substanţelor pectice din lamela mediană a fructelor, scade fermitatea ţesuturilor, proces ce caracterizează fazele de maturitate şi senescenţă);
5) - asigură protecţie şi apărare (reprezintă principala barieră structurală pentru agenţii patogeni, iar substanţele fenolice constituie mijloc de protecţie chimică împotriva atacului agenţilor patogeni; substanţele de natură proteică joacă rol specific în fenomenul de recunoaştere, aşa cum este cazul lectinelor, care participă la recunoaşterea bacteriilor simbionte, care la rândul lor participă la realizarea simbiozelor de tip rhizobial);
6) - cerurile din peretele celular previn deshidratarea;
7) - peretele celular poate fi biodegradat, asigurând glucide pentru metabolism, în special la unele seminţe;
8) - asigură transportul apei şi a substanţelor dizolvate, prin spaţiile dintre microfibrilele celulozice – transportul prin apoplast.

Din punct de vedere economic, peretele celular prezintă importanţă pentru obţinerea de hârtie, textile, cherestea, extragere de polimeri (ex. pectine) etc.

Peretele celular reprezintă de asemenea o sursă de materie organică în ecosistem, ca humusul în sol. Cele mai abundente molecule organice de pe pământ sunt polimerii peretelui celular: celuloza şi lignina.

2.2.2. Membrana citoplasmatică – Plasmalema

Plasmalema sau membrana citoplasmatică care înconjoară celula, delimitează citoplasma de peretele celular. Ea reprezintă *adevărata barieră selectivă dintre celulă şi mediul înconjurător*. De aceea, plasmalema îndeplineşte numeroase funcţii fiziologice, cum ar fi reglarea compoziţiei interiorului celulei şi a interrelaţiilor cu exteriorul celulei (Larson şi al., 1990). Plasmalema este probabil cea mai complexă şi diferenţiată membrană biologică, fiind diferită de la o celulă la alta, într-un organ sau ţesut (Sandelius şi Morre, 1990).

O altă membrană biologică importantă este tonoplastul (parte a sistemului de endomembrane), care înveleşte la exterior vacuola (vezi Vacuola).

Plasmalema se formează în timpul diviziunii celulare, odată cu formarea peretelui celular.

Din punct de vedere structural, plasmalema prezintă în general asemănări cu structura membranelor care învelesc organitele celulare. De altfel, în celula vegetală sunt peste 20 de tipuri de membrane (de exemplu plasmalema, tonoplastul, reticulul endoplasmatic, complexul Golgi, reţeaua trans-Golgi, membrana nucleară etc.).

2.2.2.1. Componentele membranei citoplasmatice

Principalele componente ale membranei citoplasmatice, ca de altfel a biomembranelor în general sunt *lipidele, proteinele şi hidraţii de carbon*.

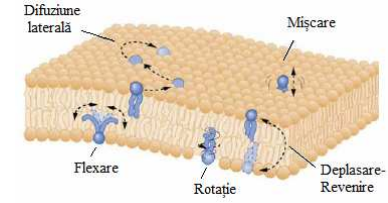


Fig. 2.8. Model al mozaicului fluid

În privinţa compoziţiei lipidice, ***conform ipotezei mozaicului fluid*** (Singer şi Nicholson, 1972) (*fig. 2.8.*), toate membranele biologice constau dintr-un strat dublu de fosfolipide, care constituie reţeaua structurală, în care sunt ancorate proteinele membranale (*fig. 2.9.*). Fosfolipidele sunt di-esteri ai acidului fosforic cu diacilglicerolul şi diferiţi alcooli. Ele conţin un pol hidrofob (porţiunea insolubilă în apă, acizii graşi) şi un pol hidrofil (porţiune solubilă în apă – inozitol, colină, etanol-amină, serină).

Ca toate substanţele grase, lipidele membranale pot exista în două *stări fizice* diferite:

- gel semi-cristalin
- fluid

Orice lipid dat sau amestec de lipide poate să se transforme din gel în fluid, prin intermediul temperaturilor crescute, iar această modificare de stare este cunoscută sub denumirea - *tranziţie de fază*. Cu cât gradul de saturare a acizilor graşi este mai mare, cu atât se produce mai uşor tranziţia de fază, de la fluid la gel, sub influenţa temperaturilor coborâte pozitive. Acest proces determină scăderea permeabilităţii membranelor plasmatice şi ale organitelor celulare cu circa 60%.

Cele mai importante clase de lipide caracteristice membranei plasmatice sunt *fosfolipidele*, *glicolipidele* şi *sterolii*. În mod frecvent, cercetările s-au axat pe determinarea compoziţiei în acizi graşi şi în mod special, pe stabilirea gradului de nesaturare, interpretat ca „fluiditate” sau „micro-vâscozitate” a membranei.

În membranele cloroplastelor predomină galactolipidele şi sulfolipidele. În celelalte membrane ale organitelor celulare predomină fosfolipidele.

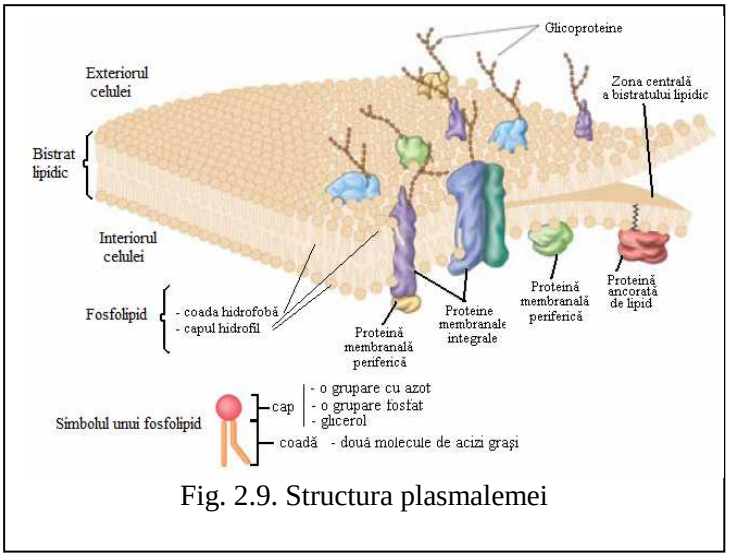


Fig. 2.9. Structura plasmalemei

Pentru *biosinteza lipidelor membranale*, trebuie menţionat faptul că participă mai multe organite celulare. Astfel, în cloroplast se realizează biosinteza acizilor graşi cu C_{16} şi C_{18}. Aceştia sunt transportaţi în citosol, apoi în reticulul endoplasmatic neted (sub formă acilată, legaţi de o proteină transportoare). La nivelul reticulului endoplasmatic neted are loc inter-conversia acizilor graşi, esterificarea glicerolului şi biosinteza unor lipide precum linalenoil fosfatidilcolina şi linalenoil galactolipide. Ulterior, aceste substanţe se acumulează în canaliculele reticulului endoplasmatic neted. Acestea formează o veziculă transportoare care le transportă prin citosol, până la membranele plasmatice. Acolo, ele sunt eliberate şi respectiv încorporate în structura membranelor.

În privinţa proteinelor, modelul original al mozaicului fluid a inclus două tipuri de bază de *proteine*:

- proteine *integrale*;
- proteine *periferice* .

Prin definiţie, proteinele periferice sunt solubile în apă şi pot fi eliberate prin spălarea membranelor în apă, în săruri sau soluţii acide, care nu distrug bistratul lipidic. Spre deosebire de acestea, proteinele integrale sunt insolubile în apă şi pot fi eliberate numai cu detergenţi sau solvenţi organici, care degradează bistratul.

Cercetările recente au permis descoperirea a *patru clase adiţionale de proteine* membranale:

- legate de acizi graşi;
- legate de o grupare prenil;
- ancorate de fosfatidilinozitol;
- legate de colesterol, fiecare dintre ele fiind ataşate bistratului prin cozile lipidului.

Unele proteine membranale interacţionează cu peretele celular, inclusiv prin formarea unor legături fizice cu moleculele peretelui celular, sinteza şi asamblarea polimerilor pereţilor celulari şi crearea unui domeniu inter-facial specific, puternic hidratat. Prezenţa unor legături fizice între plasmalemă şi peretele celular a fost dedusă prima oară din existenţa unor firişoare care conectează protoplaştii celulelor plasmolizate, cu pereţii celulari (*fig. 2.10.*). Denumirea de – *firişoare Hecht* - s-a dat în onoarea lui Kurt Hecht, creditat cu această descoperire în 1912. În timpul aclimatizării la frig, numărul firişoarelor Hecht creşte.

De asemenea, printre moleculele de fosfolipide se găsesc molecule de **glucide** (galactoză, glucoză, fructoză etc.), citocromi, flavone, flavoproteine şi chinone, cu rol oxido-reducător. **Calciul** reprezintă un component important al membranelor şi asigură acestora stabilitate. Totodată, calciul modifică potenţialul de membrană şi reprezintă un mesager biochimic secundar. Formarea complexului calmodulin - calciu la nivel de citosol stimulează activitatea unor enzime.

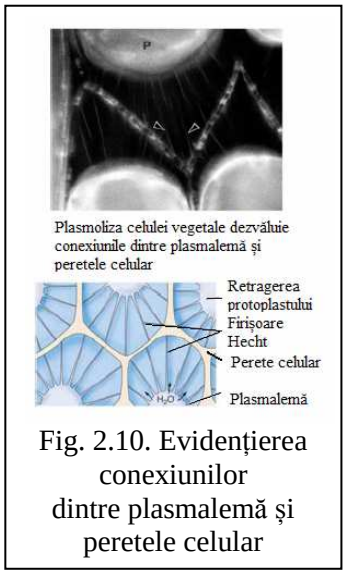


Fig. 2.10. Evidenţierea conexiunilor dintre plasmalemă şi peretele celular

2.2.2.2. Proprietăţile plasmalemei

Principalele proprietăţi ale membranelor sunt *permeabilitatea* şi *potenţialul de membrană*.

► **Permeabilitatea** reprezintă însuşirea unei membrane de a permite trecerea gazelor, lichidelor şi a substanţelor dizolvate într-un lichid. Din acest punct de vedere, o membrană poate să permită trecerea substanţelor sau se poate opune trecerii acestora. Vorbim despre o membrană permeabilă, respectiv una impermeabilă. Plasmalema, precum şi alte membrane biologice se caracterizează printr-o *semipermeabilitate selectiv diferenţială. Ea permite trecerea moleculelor de apă şi se manifestă selectiv în ceea ce priveşte trecerea substanţelor dizolvate*.

Determinarea gradului de permeabilitate se poate realiza printr-o metodă indirectă, respectiv metoda conductometrică, dar şi prin alte metode. Unitatea standard pentru conductivitate a fost mhos cm^{-1} şi s-a schimbat ulterior cu Siemens cm^{-1}. De obicei, conductivitatea se exprimă în microsiemens cm^{-1} .

Permeabilitatea plasmalemei, respectiv selectivitatea acesteia se modifică pe parcursul ciclului normal de creştere şi dezvoltare a plantelor. Valori mai mari sunt caracteristice celulelor tinere şi celor din seminţele uscate aflate în perioada de dormanţă. La celulele mature se determină cele mai mici valori (corespunzător unei selectivităţi pronunţate în privinţa transportului

electroliţilor). În perioada de trecere de la maturitate, la senescenţă, valoarea permeabilităţii membranelor creşte marcant.

Totodată, gradul de selectivitate al plasmalemei, ca de altfel a membranelor biologice în ansamblul lor este influenţat de acţiunea factorilor de stres biotici sau abiotici (Delian şi al., 1999; Delian şi al., 2000; Delian, 2006). Aceasta se explică prin deteriorarea ultrastructurii membranelor, din cauza acţiunii mai multor factori:

● activităţii fosfolipazelor, care determină descompunerea fosfolipidelor membranale şi în consecinţă creşte permeabilitatea membranelor;
● acţiunii etilenei (hormon de maturare, dar şi de stres);
● peroxidării lipidelor membranale, sub acţiunea peroxizilor etc . (Burzo şi al., 2004).

► **Potenţialul de membrană** *este determinat de distribuţia neuniformă a ionilor de o parte şi de alta a membranelor plasmatice* (*fig. 2.11.*). Prin urmare, celulele se comportă ca un acumulator, generându-se un potenţial bioelectric de -70 mV, până la -170 mV. Spre exemplu, la un pH de 7,5 în citoplasmă şi 5,5 în apoplast, potenţialul bioelectric este de -150 mV.

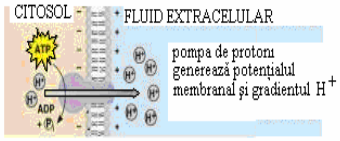


Fig. 2.11. Generarea potenţialului membranal şi a gradientului protonilor

Valoarea potenţialului de membrană variază cu vârsta celulelor:

● valori mai mici la celulele tinere (cu conţinut mare de apă şi scăzut în ioni);
● valori maxime la celulele mature (când membranele sunt mai selective);
● valorile scad în faza de senescenţă (când creşte permeabilitatea membranelor).

În funcţie de valorile potenţialului de membrană se determină şi direcţia de transport a cationilor. Astfel, un potenţial de membrană ridicat determină un transport al cationilor în celule, iar un potenţial de membrană scăzut determină ieşirea ionilor din celule.

2.2.2.3. Rolul fiziologic al plasmalemei

Plasmalema îndeplineşte numeroase funcţii fiziologice:

● asigură compartimentarea celulară, separând soluţiile din apoplast şi citosol;
● prin transportul activ al ionilor, determină şi menţine o concentraţie mai mare de substanţe minerale în simplast, comparativ cu apoplastul; se generează astfel potenţialul bioelectric şi potenţialul osmotic;
● are rol de transport a apei, ionilor şi compuşilor organici cu greutatea moleculară mică, între apoplast şi simplast;
● are rol în menţinerea homeostaziei celulare, adică a parametrilor fiziologici celulari (fiind implicată în menţinerea concentraţiei ionilor de hidrogen, precum şi a calciului la valori normale la nivelul citosolului), prin intermediul diferitelor tipuri de transportori (Dajinavičienė, 2008);
● contribuie la biosinteza celulozei, prin intermediul celulozo sintazelor;
● constituie “situs” pentru perceperea şi transducţia semnalelor;
● proteinele membranale au diferite funcţii, în raport cu localizarea lor în celulă etc.

2.2.3. Citosolul

Citosolul *reprezintă o soluţie citoplasmatică delimitată de plasmalemă şi tonoplast, dar exterior tuturor organitelor celulare.*

Termenul de citoplasmă reprezintă un termen colectiv pentru citosol, plus organitele “suspendate” în citosol. Citosolul este o componentă importantă a citoplasmei, deşi cantitatea de citosol este redusă la celula vegetală, ca urmare a volumului mare al vacuolei.

Citosolul reprezintă fluidul intern al celulei, unde se desfăşoară o parte a metabolismului celular. Prin urmare, componenta majoră o constituie apa, dar există şi o structură cu un înalt nivel molecular de organizare (apă, ioni minerali, molecule mici şi molecule mari solubile în apă, precum proteinele, acestea din urmă reprezentând circa 20%-30%).

Proteinele din citosol joacă un rol important în căile de transducţie a semnalelor, în glicoliză, acţionează ca receptori intracelulari etc.

2.2.4. Citoscheletul

Citoscheletul este o reţea filamentoasă proteică complexă şi dinamică, care străbate citosolul şi care asigură organizarea în spaţiu a organitelor celulare. Fiecare structură este filamentoasă, are un diametru fix, dar lungimea este foarte variabilă, chiar uneori cu o extindere de până la câţiva micrometrii.

Citoscheletul este un sistem dinamic, supus proceselor de asamblare/dezasamblare, căci legăturile dintre unităţi sunt slabe, ne-covalente, dar destul de puternice pentru a reda stabilitate relativă în condiţii celulare.

În alcătuirea citoscheletului intră:

► *microtubuli* – halouri cilindrice cu un diametru exterior de 25 nm, alcătuiţi din proteinele α şi β tubulină, fiecare cu o masă moleculară de 55 daltoni; subunităţile α şi β tubulină sunt aranjate în helix şi heterodimerizează la modul cap-coadă dând naştere polarităţii, care joacă un rol crucial în funcţionalitatea lor (Eckardt, 2006).

► *microfilamente* – spre deosebire de microtubuli au un diametru de circa 7 nm; un microfilament constă din subunităţi de actină polimerizate (o formă specială de proteină găsită în muşchi, denumită actină globuloasă sau G- actină);

► *filamente intermediare* (cu mărime intermediară între cele două) (*fig. 2.12.*).

În privinţa rolului fiziologic:

Microtubulii

● contribuie la menţinerea formei celulei, asigurând stabilitate;

● microtubulii speciali, chiar în interiorul plasmalemei, denumiţi microtubuli corticali sunt implicaţi în creşterea ordonată a peretelui celular;

● direcţia de extensie şi forma peretelui celular este guvernată de orientarea microtubulilor;

● orientează traficul veziculelor derivate din C. Golgi, către plasmalemă sau vacuolă;

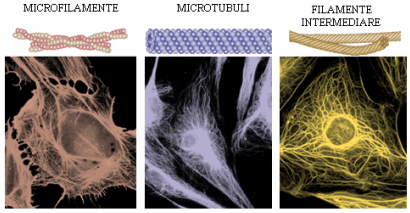


Fig. 2.12. Componentele citoscheletului

● rol în crearea fusului de diviziune, care ghidează mişcarea cromozomilor în timpul diviziunii celulare;

Microfilamentele

● asigură elasticitate citoplasmei;

● contribuie la realizarea mișcărilor în citosol;

Organizarea microfilamentelor suferă modificări dinamice pe parcursul diviziunii celulei, elongației și diferențierii (Higakia și al., 2007).

2.2.5. Sistemul de endomembrane

Sistemul de endomembrane este un concept introdus de More şi Mollenhauer (1974) şi include:

► *reticulul endoplasmatic;*

► *complexul Golgi;*

►*membrana nucleară*, precum şi *alte organite* şi *membrane* (de exemplu: microvezicule, membrana vacuolară) care îşi au originea în reticulul endoplasmatic sau complexul Golgi. El separă reacţiile biochimice în cadrul unor compartimente limitate de membrane şi reprezintă o cale de transport a substanţelor, atât intracelular cât şi transversal prin plasmalemă, pe calea secreţiei sau endocitozei.

Principalul *rol fiziologic* îl constituie:

● biosinteza şi transportul lipidelor, proteinelor şi polizaharidelor destinate alcătuirii peretelui celular sau destinate altor localizări în celulă;

● contribuie la menţinerea integrităţii celulei şi detoxifierea de molecule străine, care au pătruns în celulă.

Sistemul de endomembrane sau calea secretoare este critic pentru biosinteza şi traficul către plasmalemă şi vacuolă (*fig.2.13*.). Departe de a fi static, morfologia, localizarea şi funcţia acestor compartimente endomembranale sunt foarte dinamice în cursul creşterii şi dezvoltării plantelor. Pe lângă rolul tradiţional de transport, recent s-a arătat implicarea sa într-o varietate de răspunsuri specifice, incluzând semnalizarea dată de acidul abscisic şi auxină; dezvoltarea plantelor; răspunsuri tropice şi apărarea faţă de patogeni (Carter şi al, 2004).

1) „*Traficul înainte*" începe cu sinteza proteinelor destinate pentru secreţie şi continuă cu eliberarea în reticulul endoplasmatic, precum şi transportul către complexul Golgi, unde are loc sortarea, fie pentru translocare către exteriorul celulei, fie către diferite compartimente celulare (de exemplu vacuole de depozitare a proteinelor, vacuole litice, plasmalemă, perete celular).

2) „*Traficul înapoi*" este cel realizat în direcţie opusă şi se permite astfel endocitoza unor molecule extracelulare, precum şi reciclarea membranelor şi proteinelor, în vederea menţinerii integrităţii celulare.

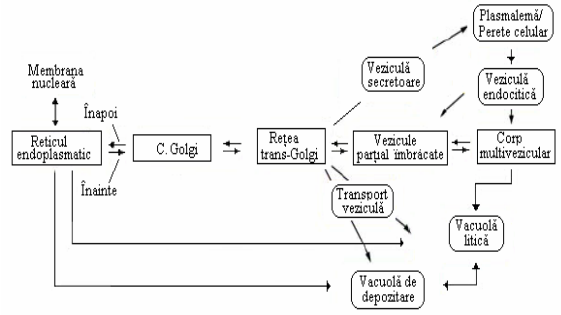


Fig. 2.13. Diagrama compartimentelor principale ale sistemului de endomembrane şi a direcţiilor de trafic între compartimente

2.2.5.1. Reticulul endoplasmatic

Reticulul endoplasmatic este un sistem membranal 3-D şi reprezentă cel mai extins sistem membranal la eucariote. El are o pondere de circa 50% din membranele celulei vegetale. Este prevăzut cu *membrană simplă lipo-proteică*. În secţiune transversală apare ca două membrane paralele, constituite din proteine integrale şi periferice interpuse, iar la mijloc se află un spaţiu numit *lumen.* Termenul de reticul endoplasmatic a fost introdus de Porter şi Thompson (1947).

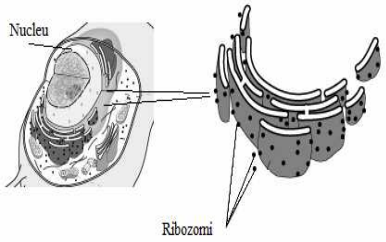


Fig. 2.14. Reticulul endoplasmatic rugos

Este alcătuit din cisterne ultramicroscopice, pe care sunt ataşaţi ribozomi, cisterne aflate în apropierea nucleului şi care poartă denumirea de *reticul endoplasmatic rugos* (**RE_r**) (*fig. 2.14.*).

Membrana reticulului endoplasmatic rugos se află în legătură cu membrana nucleară şi se asigură continuitatea funcţională a spaţiilor interne a celor două formaţiuni celulare. Aceste vezicule se continuă cu o reţea de tubuli, lipsită de ribozomi, dispusă spre complexul Golgi şi plasmalemă şi care poartă denumirea de *reticul endoplasmatic neted* (**RE_n**).

Reţeaua de tubuli se extinde prin intermediul plasmodesmelor, către celulele vecine.

În relaţie cu particularităţile structurale, funcţiile fiziologice sunt diferenţiate:
● cisternele sunt implicate în sinteza proteinelor membranale şi a celor destinate secreţiei, în afara celulei sau în vacuolă;
● tubulii sunt implicaţi în sinteza lipidelor şi prevalează în celulele care transportă sau secretă lipide şi glucide.

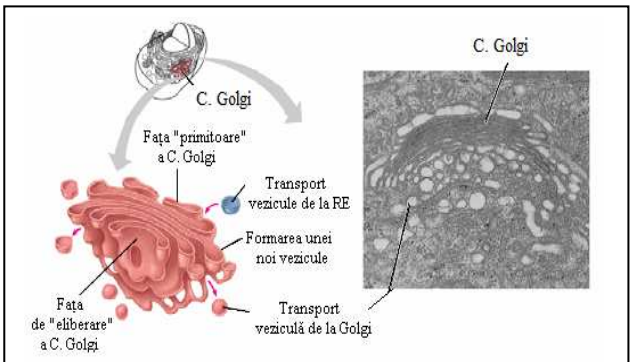
Reticulul endoplasmatic este un sistem dinamic al citoplasmei şi îndeplineşte numeroase *funcţii fiziologice*:
● sinteza proteinelor (plastice, de rezervă, enzime) - RE_r;
● sinteza lipidelor - RE_n (foarte extins în celulele care sintetizează activ uleiuri);
● sinteza de componente membranale proprii (steroli, fosfolipide);
● transportul anumitor enzime şi alte substanţe, în interiorul celulei (către diferite părţi ale celulei) şi transversal prin plasmalemă în afara citoplasmei, în urma procesului de secreţie;
● rol funcţional, în sensul că divide celula în compartimente specializate şi asigură o suprafaţă la nivelul căreia pot avea loc reacţii chimice; determină o specializare metabolică internă;
● asigură conexiunea cu alte celule, prin intermediul plasmodesmelor, formând căile de transport prin simplast şi reţelele de comunicare celulă – celulă.

Prin urmare, reticulul endoplasmatic este un organit de sinteză, asamblare şi sortare a proteinelor secretate, iar subunităţile specializate denumite “ERES” (situsuri de export ale RE) sunt dedicate exportului proteinelor către Golgi (Tang şi al., 2005).

2.2.5.2. Complexul Golgi

Complexul Golgi constă din pachete de cisterne individuale aplatizate, cu capetele rotunjite, combinate cu o reţea neregulată de tubuli şi vezicule, numită reţea trans Golgi (TNG). Denumirea acestor cisterne este de dictiozomi sau corpi Golgi. Unul până la mai mulţi dictiozomi sunt denumiţi colectiv complexul Golgi, după numele italianului Camillo Golgi, care i-a descoperit prin microscopie optică în anul 1898.

Complexele Golgi au regiuni funcţionale distincte. Ele sunt practic formaţiuni polarizate, prevăzute cu membrană simplă lipo-proteică:
► cisternele din apropierea plasmalemei, alcătuiesc faţa denumită „trans” (faţa matură sau de eliberare);
► cisternele dinspre centrul celulei sunt denumite faţa „cis” (faţa formatoare):
► reţeaua trans Golgi (faţa trans) (*fig. 2.15.*).


C. Golgi
Faţa "primitoare" a C. Golgi
Transport vezicule de la RE
Formarea unei noi vezicule
Faţa de "eliberare" a C. Golgi
Transport veziculă de la Golgi
C. Golgi
Fig. 2.15. Complexul Golgi

Componentele eliberate din reticulul endoplasmatic intră în complexul Golgi pe la faţa formatoare, urmând a se deplasa către zona mediană şi zona de eliberare. Transportul din reticulul endoplasmatic către Golgi, între cisternele Golgi şi din reţeaua trans Golgi, către destinaţia finală (din interiorul sau din exteriorul celulei) are loc pe calea unor vezicule îmbrăcate în proteine (COP I şi COP II – „protein coated vizicles”).

Veziculele derivate din RE sunt în general netede, în timp ce cele derivate din complexul Golgi sunt îmbrăcate în proteină (vezicule îmbrăcate în clathrină), formându-se ca o colivie. De altfel, moleculele transportate trebuie întâi să fie legate de un receptor proteic specific, din zone speciale ale membranei („coated pits”). După recunoaştere urmează încapsularea şi se formează vezicula.

O diferenţă majoră dintre căile secretoare la celula vegetală şi animală este deplasarea şi localizarea complexelor Golgi. La celula vegetală, complexele Golgi sunt dispersate în zeci şi sute de pachete individuale, deosebit de mobile. Acestea funcţionează ca un aspirator mobil pentru produşii din reticulul endoplasmatic, pe principiul **opreşte şi pleacă** sau staţie de umplere. Aceasta reliefează existenţa unui semnal regulator produs de reticulul endoplasmatic.

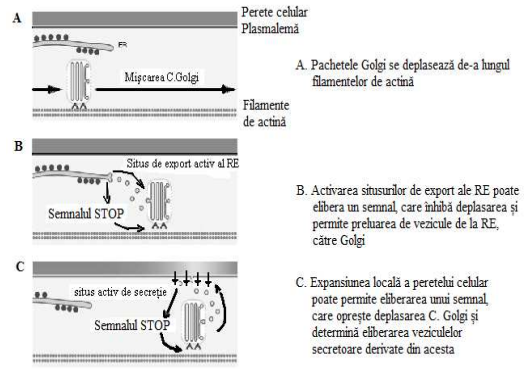

A
Perete celular
Plasmalemă
ER
Mişcarea C.Golgi
Filamente de actină
A. Pachetele Golgi se deplasează de-a lungul filamentelor de actină
B
Situs de export activ al RE
Semnalul STOP
B. Activarea situsurilor de export ale RE poate elibera un semnal, care inhibă deplasarea şi permite preluarea de vezicule de la RE, către Golgi
C
situs activ de secreţie
Semnalul STOP
C. Expansiunea locală a peretelui celular poate permite eliberarea unui semnal, care opreşte deplasarea C. Golgi şi determină eliberarea veziculelor secretoare derivate din acesta

Fig. 2.16. Model al reglării – opreşte şi pleacă – pentru C. Golgi şi al relaţiilor cu transportul produşilor, prin intermediul căii secretoare

Nebenführ şi al. (1999) au propus un model conform căruia mişcarea reţelei opreşte şi pleacă a unităţilor reţelei Golgi-trans-Golgi este reglată prin *semnale stop*, produse de reticulul endoplasmatic la nivelul situsurilor de export (*fig. 2.16.*). La celula animală, Complexele Golgi sunt dispuse pe microtubuli.

În privința cunoașterii traficului către membrane și de la membrane aflate în legătură funcțională cu complexele Golgi, în ultimii ani s-au făcut progrese remarcabile. S-au identificat noi rute de la Golgi, către organite din afara sistemului secretor. Se scoate în evidență importanța complexelor Golgi, ca stație majoră de sortare în celula vegetală (Matheson și al., 2006) (*fig. 2. 17.*).

Principalele *funcţii fiziologice* ale complexelor Golgi sunt:

- biosinteza acizilor poligalacturonici, care formează lamela mediană şi a celor care intră în structura peretelui celular primar şi secundar;
- biosinteza glucidelor complexe, care intră în alcătuirea peretelui celular: xiloglucani, galactomanani, β- glucani etc.;
- glicozilarea proteinelor provenite din RE_r şi formarea glicoproteinelor complexe;
- prin încorporarea substanţelor formate în vezicule Golgiene se asigură transportul prin intermediul acestor vezicule către spaţiul extracelular (pentru formarea peretelui celular) sau către zonele de depozitare;
- prin intermediul veziculelor Golgiene, în timpul telofazei se transportă spre fragmoplast substanţele ce vor da naştere lamelei mediane.

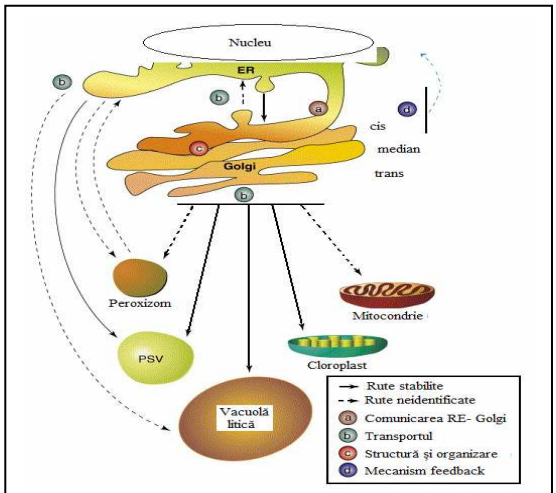


Fig. 2. 17. Noi rute de la Golgi, către organite din afara sistemului secretor

2.2.5.3. Microvezicule

► Peroxizomii

Peroxizomii sunt formaţiuni de dimensiuni mici (diametrul de 0,2 – 1,7 μm) specifice celulelor eucariote (70 – 100 într-o celulă). Sunt prevăzuţi cu membrană simplă lipo-proteică, care înconjoară un matrix fin granular. Ei conţin circa 50 enzime. *Catalaza* este întotdeauna prezentă şi este folosită ca enzimă marker pentru acest organit.

Rolul fiziologic diferă în funcţie de ţesutul sau organul în care peroxizomii se află:

- în semințele în curs de germinare, care au depozitate ca substanțe organice de rezervă lipide, ei participă la biodegradarea acestora;

● în frunzele plantelor cu metabolism C_3 (“peroxizomii de frunză”) au rol în procesul de fotorespiraţie (alături de cloroplaste şi mitocondrii);
● în nodulii unor rădăcini la leguminoase sunt implicaţi în procesul de conversie a azotului molecular recent fixat (pe cale biologică), în compuşi organici bogaţi în azot;
● aşa numiţii peroxizomi nespecializaţi din celulele rădăcinii şi alte ţesuturi conţin catalază (cu rol în descompunerea apei oxigenate - H_2O_2), glicolat-oxidază, urat oxidază şi enzimele β-oxidării (dar funcţia propriu zisă nu este bine cunoscută).

► Glioxizomii

Glioxizomii sunt aşa numiţii „*peroxizomi specializaţi*”.
● au rol în *biodegradarea acizilor graşi*, prin procesul de β-oxidare şi apoi conversia la acid succinic, printr-o serie de reacţii (ciclul acidului glioxilic). Acidul succinic este folosit în mitocondrii, pentru biosinteza acidului oxal - acetic, din care apoi în citosol se formează acidul piruvic, care este utilizat în procesul de gluconeogeneză.

► Oleozomii

Oleozomii, denumiţi şi sferozomi sunt vezicule înconjurate de „o jumătate de membrană”, respectiv dintr-un singur strat fosfolipidic, format prin *depunerea lipidelor de rezervă* între cele două bistraturi ale membranei RE_n (*fig. 2.18.*). Prin urmare, fiind un singur strat, grupările polare sunt orientate către faza apoasă, în timp ce cozile hidrofobe sunt orientate spre interior şi astfel se stabilizează în uleiurile depozitate. În membrana acestora se găsesc şi oleozine, pentru a se preveni fuzionarea oleozomilor cu alte organite.

Oleozomii se găsesc în număr mare în celulele plantelor oleaginoase. În oleozomi se găsesc de asemenea lipaze. Aceste enzime catalizează biodegradarea lipidelor în glicerol şi acizi graşi, pe parcursul procesului de germinare a seminţelor.

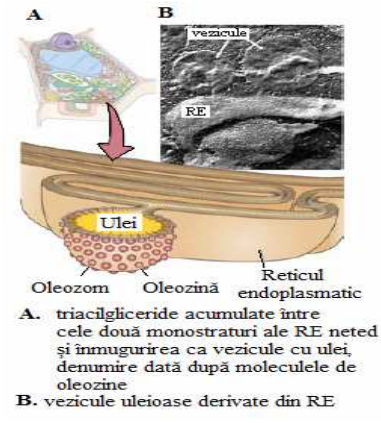


Fig. 2.18. Formarea oleozomilor

► Proteinozomii

Proteinozomii sunt vezicule protejate la exterior de o membrană simplă lipo-proteică, iar *la interior* se găsesc *proteine de rezervă*. Depozitarea proteinelor în seminţele multor plante este vacuolară şi veziculele se formează prin scindarea vacuolei (cum este cazul la ovăz). La cereale însă, există un program dezvoltat pentru depozitarea proteinelor în vezicule rezultate din reticulul endoplasmatic.

În proteinozomi sunt enzime de tip proteaze, care catalizează biodegradarea proteinelor în aminoacizii corespunzători, în timpul germinării seminţelor.

2.2.6. Ribozomii

Ribozomii sunt particule dense sau granule citoplasmatice (15-25 nm Ø), observate pentru prima oară de Robinson şi Brown (1953) în celula vegetală şi de către George Emil Palade, în celula animală în acelaşi an, folosind microscopul electronic. Sunt denumiţi şi granulele lui Palade. *George E. Palade s-a născut la Iaşi şi a fost laureat al premiului Nobel în anul 1974 pentru Fiziologie şi Medicină (pentru descoperirile sale cu privire la organizarea structurală şi funcţională a celulei) (Co-premiu - Albert Claudé şi Chriastian De Duve , ambii din Belgia).*

Ribozomii sunt cele mai mici organite celulare fără membrană (150Å până la 230 Å). Sunt două tipuri de ribozomi: 70 S şi 80 S (tipul 70 S caracteristic celulei procariote şi tipul 80 S la celulele eucariote). Fiecare ribozom constă din două subunităţi: o subunitate mai mică şi o subunitate mai mare. Din punct de vedere al compoziţiei chimice, un ribozom este alcătuit din

proteină (riboproteină) (ca şi componentă înconjurătoare) şi acid nucleic (ARN). Raportul dintre ARN-ul ribozomal şi proteină este de 2:1 la ribozomii 70 S şi de circa 1:1 pentru ribozomii 80 S. Ribozomii nu conţin molecule lipidice. Ei se pot dezasambla, când nu sintetizează activ proteină.

Ribozomii sunt localizaţi:

▪ în citoplasmă: fie liberi, fie grupaţi în poliribozomi;
▪ asociaţi cu RE şi constituie RE_r;
▪ în cloroplaste şi mitocondrii, ca formaţiuni mai mici (similari ribozomilor 70 S).
● Ribozomii au rol în sinteza proteinelor

2.2.7. Plastidele

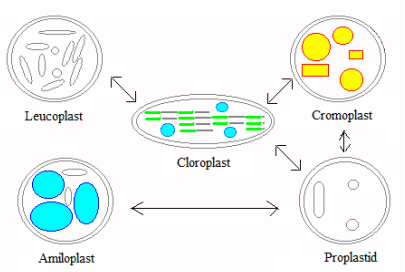


Fig.2.19. Diferite tipuri de plastide şi transformarea acestora

Plastidele sunt organite citoplasmatice specifice celulei vegetale, înconjurate de o membrană dublă lipo-proteică. Ele au capacitatea de autoreproducere şi posedă material genetic propriu ca şi mitocondriile. Toate plastidele derivă din proplastide, prezente în ţesuturile tinere meristematice, având un diametru de circa 0,2 – 1,0 µm şi o formă sferică sau ovoidă. În stroma proplastidelor se depozitează uneori fitoferritină, o formă de depozitare a fierului, similar ferritinei din celula animală. Odată formate, anumite tipuri de plastide se pot transforma în alte tipuri (*fig. 2.19.*).

Se disting **două categorii principale** de plastide:

► <u>plastide necolorate</u>

Dintre acestea, foarte cunoscute sunt *amiloplastele*, unde se biosintetizează amidon şi se stochează granule de amidon (spre exemplu în celulele tuberculilor de cartof). Denumirea lor vine de la amiloză (polizaharid linear solubil în apă, alcătuit din α(1-4)- glucopiranol, de fapt componentul principal al amidonului). În celulele din vârfurile rădăcinilor sensibile la gravitaţie, amiloplastele servesc ca statolite, sedimentându-se ca răspuns la forţa de gravitaţie şi declanşând răspunsul gravitropic.

Leucoplastele sunt implicate în sinteza monoterpenelor. Aceste substanţe volatile sunt prezente în uleiurile volatile. Numeroşi astfel de compuşi sunt exploataţi de om pentru miros sau ca agenţi farmacologici. Structura internă este similară cu cea a unui cloroplast, cu excepţia granei şi a pigmenţilor. Ele au membrană dublă, o stromă densă, câteva membrane interne, ribozomi, precum şi plastoglobuli. În mod tipic sunt înconjurate de membrane tubulare ale RE_n care participă la sinteza lipidelor.

Leucoplastele se găsesc în organe subterane ale plantelor: rizomi, bulbi, tuberculi, rădăcini.

Etioplastele sunt plastide la care dezvoltarea din proplastide, către cloroplaste a fost stopată de absenţa luminii sau condiţii de insuficienţă a luminii la nivelul frunzelor. Ele nu au clorofilă, dar au cantităţi mari de protoclorofilidă. Etioplastele depozitează lipide membranale în ceea ce se cheamă corpul prolamelar, cu o proporţie de 75% lipide. Când sunt iluminate, încep să se transforme în cloroplaste. Lumina controlează sinteza clorofilei din protoclorofilidă, precum şi asamblarea complexelor proteice. Moleculele lipidice din corpul prolamelar sunt dispersate în membranele fotosintetice active, cunoscute sub numele de tilacoide.

► <u>plastide colorate</u>

Acestea depozitează molecule de pigmenţi şi sunt de două tipuri:

1) *cromoplaste*, respectiv centre de culoare galben, oranj, roşu, după cum se combină ca prezenţă carotenii, cu xantofilele. Ele conţin enzime care catalizează sinteza lipidelor şi carotenilor; globule osmeofile (care se colorează în negru cu acid osmic), precum şi plastoglobuli care conţin

pigmenţi carotenoizi, ce conferă culoarea caracteristică pentru unele flori şi fructe. Cromoplastele se dezvoltă direct din proplastide sau prin rediferenţierea cloroplastelor, aşa cum este cazul la maturarea fructelor de tomate. În cazul cromoplastelor din celulele petalelor florilor, principala funcţie o reprezintă atragerea insectelor în vederea polenizării.

2) *cloroplaste*, respectiv plastide de formă ovală, sferică sau lenticelară (5-8 μm lungime şi 3-4 μm grosime) situate în special în celulele mezofilului frunzelor şi care constituie sediul fotosintezei. Numărul cloroplastelor într-o celulă este variabil (un cloroplast la alge şi 20-40 la plante superioare). O celulă matură a mezofilului frunzei la *Arabidopsis thaliana* conţine circa 120 cloroplaste.

Din punct de vedere al compoziţiei chimice: cloroplastele conţin apă (50%), proteine (25%), lipide (15%) şi pigmenţi (10%). Sunt delimitate la exterior de o membrană dublă lipo-proteică. Membrana externă este netedă şi prevăzută cu un număr mare de pori. Ea permite trecerea moleculelor de până la 10 kDa. Membrana internă prezintă pliuri denumite **tilacoide**, nu prezintă pori şi în consecinţă este mai puţin permeabilă. Totuşi, ea poate fi străbătură de molecule de trioze şi aminoacizi.

Între cele două membrane se află un spaţiu denumit **lumen**.

Tilacoidele pot fi dispuse ca formaţiuni grupate, respectiv saculi (2 până la 8, ca monedele într-un fişic) şi astfel de unităţi formează *grana cloroplastului* (10 – 100 în fiecare cloroplast). Totodată, există tilacoide care realizează legătura între grana, denumite *tilacoidele stromei*.

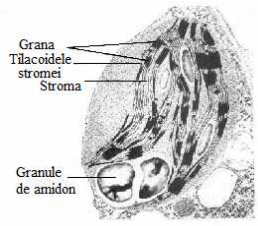


Fig. 2. 20. Cloroplastul

Fluidul intern vâscos, de natură coloidală, din jurul tilacoidelor se numeşte **stromă** (*fig. 2.20.*).

Din punct de vedere structural, tilacoidele se aseamănă cu membranele plasmatice. Ele constau dintr-un bistrat fosfolipidic, în care se găsesc substanţe transportoare de electroni, pompe de protoni, antene fotoreceptoare şi centre de reacţie, care alcătuiesc două fotosisteme, la nivelul cărora se desfăşoară faza de lumină a fotosintezei. La nivelul stromei se găsesc diferite substanţe organice, dar şi minerale. Printre acestea se găsesc o serie de enzime, care participă la realizarea fazei enzimatice a fotosintezei. De asemenea, sunt prezenţi ribozomi specifici cloroplastului şi material nuclear specific.

Rolul fiziologic al cloroplastelor

● reprezintă sediul fotosintezei, proces în care din CO_2 şi H_2O, în prezenţa luminii şi a clorofilei se sintetizează primii compuşi oganici – triozele;
● în cloroplaste are loc prima etapă a procesului de fotorespiraţie, proces prin care o parte din produşii fotosintezei sunt biodegradaţi cu producere de CO_2:
● în cloroplaste se biosintetizează proteine specifice precum RUBISCO;
● are loc biosinteza acizilor graşi cu 16 şi 18 atomi de C din acetil CoA;
● are loc reducerea nitraţilor la NH_3, la unele specii în prezenţa nitrat şi nitrit reductazei etc.

2.2.8. Mitocondriile

Mitocondriile sunt organite sferice, către elipsoidale, în general cu grosimea de 1μm şi 1-3 μm lungime. La microscop, în celulele vii, aceste organite au o aparenţă pleiomorfă (frecvent au loc modificări rapide de formă). Numărul mitocondriilor într-o celulă variază considerabil, în raport cu tipul de organism şi natura celulei. Celulele cu activitate metabolică intensă conţin un număr mai mare de mitocondrii.

Mitocondriile sunt prevăzute cu o *membrană dublă lipo-proteică. Membrana externă* este netedă, prezintă pori (prin care pot traversa moleculele mici) şi proteine transportoare, în vederea transportului de substanţe. *Membrana internă* este mai selectivă, ca urmare a unui conţinut de

cardiolipine şi alte fosfolipide. De asemenea, ea este impermeabilă pentru protoni. Ea formează pliuri numite *criste* şi la nivelul său se află lanţul transportor de electroni şi ATP- sintetaza. Membrana internă conţine circa 80% - 90% din totalul proteinelor asociate membranelor şi mai mult de 90% din totalul lipidelor mitocondriei. Spre deosebire de membrana externă, transportul substanţelor prin membrana internă este controlat de transportori proteici.

Central se află *matricea*, care are o structură asemănătoare citosolului. Aici sunt ribozomi specifici, acizi nucleici şi numeroase enzime (*fig. 2.21.*). Mitocondriile au genom propriu (similar celui bacterial ca formă, dar de dimensiuni mai mici) care codifică circa 10% din proteinele mitocondriale.

Mitocondria conţine de asemenea câteva proteine ABC („ATP binding cassete") cu rol în menţinerea homeostaziei celulare (Burkea şi Ardehali, 2007).

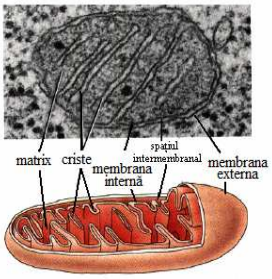


Fig. 2.21. Mitocondria

Dintre **principalele funcţii fiziologice** ale mitocondriilor amintim:

● sunt centrele respiratorii ale celulei; la nivelul lor se desfăşoară etapa finală de biodegradare a substanţelor de rezervă (ciclul Krebs) din care rezultă energie, CO_2 şi H_2O;

● are loc etapa a treia a procesului de fotorespiraţie (în care din două molecule de glicină rezultă serina, CO_2 şi NH_4);

● se desfăşoară ciclul respirator alternativ etc.

2.2.9. Nucleul

Nucleul reprezintă organitul celular cu cele mai mari dimensiuni (5-50 μm), având o formă sferică sau lobată.

Din punct de vedere structural, este prevăzut cu o *membrană dublă lipoproteică* prevăzută cu pori. Aceasta asigură realizarea comunicării (schimburilor) dintre nucleu şi citosol şi permite trecerea moleculelor cu un diametru mai mic de 10 nm. Între cele două membrane se află spaţiul perinuclear, care este continuu cu lumenul RE. Pe faţa externă a membranei nucleare externe (faţa dinspre citosol) sunt ataşaţi ribozomi.

Proteinele din citoplasmă pot trece prin por, către interiorul nucleului, numai dacă au o secvenţă de aminoacizi – semnalul de localizare nucleară - , ceea ce face ca la recunoaşterea semnalului porul să se deschidă. Pentru ieşire, este de asemenea nevoie de un semnal. În ambele cazuri, este necesar ATP de cele mai multe ori, pentru realizarea unor modificări conformaţionale.

În interiorul nucleului se află *carioplasma*. Aceasta conţine fibre lungi de ADN, în combinaţie cu proteine şi formează cromatina. În timpul diviziunii nucleului, cromatina se fragmentează formând cromozomi.

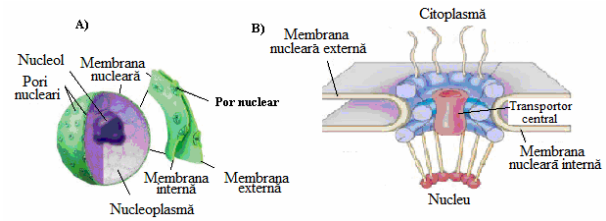


Fig.2.22. Alcătuirea nucleului şi a unui por nuclear

De asemenea, în nucleu este şi o fază apoasă (o soluţie care conţine enzime) denumită *nucleoplasmă*. Aceasta conţine probabil o structură asemenea unui citoschelet, care organizează cromatina şi *nucleolii* (*fig. 2.22.*)

Prin urmare, în carioplasmă sunt unul sau mai mulţi nucleoli. Cele mai multe celule au un singur nucleol, dar numărul lor variază de la zero, la câţiva, ca urmare a structurii lor tranzitorii. Nucleolul apare negru, dens, neregulat ca formă, constituit din fibre şi granule. Este lipsit de membrană, care să-l separe de restul nucleului. La microscopul electronic se pot distinge 3 zone:

▪ unul sau mai multe centre fibrilare, unde se consideră că are loc transcripţia proteinelor ribozomale;
▪ o zonă intermediară, dens fibrilară, care înconjoară centrele şi unde este transcris şi procesat ARN-ul ribozomal;
▪ o componentă granulară externă (care înconjoară întreaga regiune fibrilară), alcătuită din unităţi ribozomale, cu diametrul de 15-20 nm.

Rolul fiziologic al nucleului:

● este coordonatorul tuturor activităţilor vitale ale celulei, prin intermediul unor gene specifice;
● este centru cinetic celular, cel care declanşează diviziunea celulară, prin codificarea sintezei ciclinelor;
● are rol în transmiterea informaţiei genetice la urmaşi, deci rol în ereditate;
● nucleolii contribuie la sinteza proteinelor nucleare, a subunităţilor ribozomale şi a ARN-ului ribozomal.

2.2.10. Vacuomul celular

Vacuomul celular este alcătut din totalitatea vacuolelor dintr-o celulă, ocupând mai mult de 50% din volumul acesteia (5-95%). Vacuola reprezintă o parte componentă a sistemului de endomembrane, dar pentru că are o importanţă fiziologică deosebită este tratată în mod separat. Este delimitată la exterior de citosol, printr-o membrană lipoproteică denumită tonoplast, care alături de plasmalemă reprezintă una dintre principalele membrane biologice.

În interiorul vacuolei se află **sucul vacuolar** alcătuit din apă, enzime (proteine care catalizează reacţiile biochimice), ioni (precum K^+, Cl^- , Ca^{2+}, NO_3^- etc.), săruri (precum cele de calciu), glucide simple (glucoză, fructoză). De asemenea, în vacuolă sunt şi alte substanţe, incluzând metaboliţi secundari (cum ar fi alcaloizi), anumite substanţe toxice eliminate din citosol, pentru a se evita interferenţa cu metabolismul celular. Toxinele din vacuolă pot de asemenea proteja unele plante de prădători.

La plante sunt cel puţin două **tipuri de vacuole**:
► *vacuole litice,* similare în privinţa funcţiilor cu lizozomii celulelor animale;
► *vacuole pentru depozitarea proteinelor*, specifice plantelor (Bassham şi Raikhel, 2000).

Mărimea şi numărul vacuolelor diferă cu ţesutul şi stadiul de dezvoltare a plantei.

Astfel, celulele meristematice conţin multe vacuole mici. Acestea fuzionează după extensia celulară, pentru a forma o vacuolă mare, centrală (*fig.2.23.*).

În celulele ţesuturilor de depozitare din fructe şi seminţe sunt vacuole specializate, pentru depozitarea proteinelor. Celulele cambiului vascular au multe vacuole mici iarna şi o vacuolă mare vara. Un alt exemplu de versatilitate a vacuolelor derivă din investigarea celulelor motoare de la *Mimosa pudica* (Fleurat-Lessard şi al., 1997). Vacuolele din celule motoare imature (non-reactive) sunt localizate aproape de nucleu, conţin cantităţi mari de taninuri şi se crede a acţiona ca depozit pentru Ca^{2+}. Vacuola "apoasă" care este regăsită adiţional în celula motoare matură nu conţine taninuri, este mai mare, comparativ cu primul tip şi ocupă o poziţie centrală. Modificările în volum responsabile pentru mişcările frunzelor rezultă din fluxurile mari de apă transversal membranei vacuolei apoase, unde s-au detectat aproape exclusiv aquaporine γ-TIP şi tipul de pompă H^+-ATP-ază (V-ATP-ază).

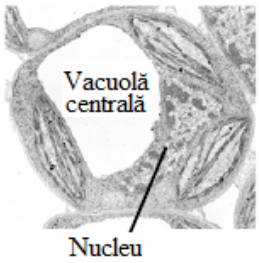


Fig.2.23. Vacuola

Rolul fiziologic al vacuolei

1) - este **sediul generării potenţialului osmotic**;

Graţie prezenţei ionilor, glucidelor simple, acizilor organici în apă (deci a substanţelor osmotic active), potenţialul apei din vacuolă este de –0,5 → -5 MPa. Se declanşează astfel procesul de pătrundere a apei în celulă, în vederea asigurării turgescenţei celulei (condiţii optime pentru desfășurarea proceselor vitale).

2) - are rol în **depozitarea şi acumularea unor substanţe,** precum: săruri, substanţe organice cu moleculă mică (glucide, aminoacizi, anumite proteine); **pigmenţi** (ex. antociani care dau culoarea florilor, fructelor şi chiar rădăcinilor); **sechestrare** de substanţe care pot dăuna citosolului (metale grele, oxalaţi, alcaloizi);

3) – rol în **digestie**;

Vacuolele sunt considerate ca lizozomii caracteristici celulei animale, deoarece aici sunt numeroase enzime hidrolitice care practic digeră porţiuni de citoplasmă, transportate aici printr-un proces de endopinocitoză.

4) - are rol în menţinerea homeostaziei celulare (**homeostazia de pH şi ionică**), respectiv în păstrarea la valori constante a parametrilor fiziologici la nivelul citosolului (Barkla şi Pantoja, 1996).

Spre exemplu, concentraţia ionilor de hidrogen (pH-ul) se menţine la valori constante, prin faptul că excesul de protoni este pompat în vacuolă, care în consecinţă are un pH mai acid cu 1-2 unităţi comparativ cu citosolul. Totodată, contribuie la menţinerea calciului citosolic la valori optime, prin pomparea la nevoie a Ca^{2+} în vacuolă şi formarea oxalatului de calciu (*fig. 2.24.*). La celula vegetală, pH-ul la nivelul vacuolei este de 5,0-5,5, până la 2,5 (lămâie) sau 7 la vacuolele de depozitare a proteinelor în stare inactivă.

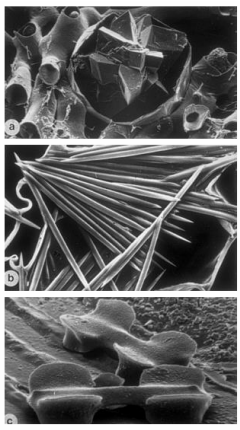


Fig.2.24. Cristale

5) - are rol în **sinteză**;

De exemplu, ultimele etape ale sintezei etilenei au loc la nivelul tonoplastului. Totodată, anumite transformări ale glucidelor au loc în vacuolă. De asemenea, anumite substanţe depozitate în vacuolă sunt modificate la acest nivel.

6) - mai recent s-au descoperit transportorii ABC („ATP binding cassette") care folosesc energia eliberată direct din hidroliza ATP;

Ei sunt asociaţi cu pompele conjugate glutationului, căci adesea transportă molecule asociate covalent glutationului. La celula vegetală, astfel de pompe acţionează pentru detoxifierea erbicidelor, pentru protecţia împotriva stresului oxidativ, acumularea pigmenţilor şi depozitarea compuşilor antimicrobieni.

Întrebări

1. Care sunt principalele proprietăţi fiziologice ale materiei vii ?
2. Care sunt principalele părţi componente ale celulei vegetale ?
3. Precizaţi rolul fiziologic al componentelor celulei vegetale, în relaţie cu structura şi compoziţia chimică a acestora.

Bibliografie selectivă

Bassham, D.C. şi Raikhel, N.V. 2000. Unique features of the plant vacuole storing machinery. Current Opinion Cell Biology, Vol. 12: 491- 495.

Bonetta, D.T şi al. 2002. Genetic dissection of plant cell wall biosynthesis. Biochemical Society Transactions, Vol. 30, part. 2.

Buer, C.S., Weathers, P.J. şi Swartzlander, Jr. 2000. Changes in Hechtian strands in cold-hardened cells measured by optical microsurgery. Plant Physiology, Vol. 122: 1365-1377.

Burkea, M.A. şi Ardehali, H. 2007. Mithochondrial ATP-binding cassette proteins. Translational Research, Vol. 150: 73-80.

Burzo, I., Delian Elena, Dobrescu Aurelia, Voican Viorica, Bădulescu Liliana. 2004. Fiziologia plantelor de cultură, Vol.I. Procesele fiziologice din plantele de cultură. Ed. Ceres, Bucureşti.

Cilia, M., Cantrill, L. şi van Bel, A. 2002. Plasmodesmata 2001. On sadfari through the symplast. The Plant Cell, Vol. 14: 7-10.

Choi, D. şi al. 2006. Expansins: expanding importance in plant growth and development. Physiologia Plantarum, Vol. 126: 511- 518.

Cosgrove, D.J. 2005. Growth of the plant cell wall. Nature Review, Vol. 6: 850-861.

Dajinavičienė, J., Jukonienė, S., Bareikienė, N., Šveikauskas, V. 2008. H^+-ATPase functional activity in plant cell plasma membrane. Sodininkystė ir Daržininkystė, 27 (2).

Delian Elena, Burzo Ioan, Voican Viorica, Aurelia Dobrescu. 1999. Studii privind permeabilitatea celulară la merele Ionathan în perioada păstrării. Lucrări Ştiinţifice, U.Ş.A.M.V.B., seria F, Vol. IV, p.37-42.

Delian Elena, Burzo Ioan, Bădulescu Liliana, Dobrescu Aurelia, Voican Ana. 2000. Permeabilitatea membranelor şi conţinutul în poliamine din merele afectate de unele dereglări fiziologice. Lucrări Ştiinţifice, Anul XXXXIII –Vol. 2 (43), Seria Horticultură, Ed. Ion Ionescu de la Brad, Iaşi, p.249-255.

Delian Elena. 2006. Fiziologia stresului biotic la plante. Ed. Cartea Universitară, Bucureşti.

Eckardt, N.A. 2006. Function of γ-tubulin in plants. The Plant Cell, Vol. 18: 1327-1329.

Higakia, T., Sanoa, T. și Hasezawaa, S. 2007. Actin microfilament dynamics and actin side-binding proteins in plants. Current opinion in Plant Biology, Vol. 10: 549- 556.

Matheson, L.A., Hanton, S.L. și Brandizzil, F. 2006. Traffic between the plant endoplasmatic reticulum and Golgi apparatus: to the Golgi and beyond. Current Opinion in Plant Biology, Vol.9: 601- 609.

Nebenführ, A. și al. 1999. Stop-and-go movements of plant Golgi stacks are mediated by acto-myosin system. Plant Physiology, Vol. 121: 1127- 1141.

Taiz, L. and Ziger, E. 2006. Plant Physiology. 4rd Ed. Sinauer Associates.

Taler, D., Galperin, M., Benjamin I., Cohen, Y. și Kenigsbuch, D. 2004. Plant eR genes that encode photorespiratory enzymes confer resistance against disease. Plant Cell, Vol. 16: 172- 184.

Tang, B.L. și al. 2005. COPII and exit from the endoplasmatic reticulum. Biochim. Biophys. Acta, Vol 1744: 293- 303.

CAPITOLUL 3

RELAŢIA CELULĂ VEGETALĂ - MEDIU

Cuvinte cheie: *difuziune, curent de masă, osmoză, potenţialul apei, imbibiţie, aquaporine, turgescenţă, plasmoliză, presiune osmotică, forţă de sucţiune, transport pasiv, transport activ, cotransport, antiport, simport, ionofor, pinocitoză, schimb de gaze*

Obiective:

● definirea şi explicarea principalelor procese fizice care guvernează relaţia celulei vegetale cu apa;
● cunoaşterea şi înţelegerea căilor de transport a apei şi a modului de realizare a stărilor de turgescenţă şi plasmoliză la celula vegetală; importanţa fiziologică a acestor stări;
● cunoaşterea şi înţelegerea căilor de transport a substanţelor dizolvate;

REZUMAT

Celula vegetală se află într-un permanent schimb de apă şi substanţe cu mediul înconjurător. Procesele fizice care stau la baza transportului apei sunt: difuziunea, curentul de masă, osmoza şi imbibiţia. Difuziunea reprezintă procesul fizic de deplasare a moleculelor / ionilor conform gradientului de concentraţie, în condiţiile în care mediile respective se află în contact direct. Curentul de masă constă în deplasarea unui grup de molecule, ca răspuns la un gradient de presiune. Osmoza este un proces de difuziune particulară a apei, transversal printr-o membrană selectiv permeabilă, care separă două medii de concentraţii diferite. Forţa conducătoare în acest caz o reprezintă gradientul potenţialului apei. Imbibiţia reprezintă procesul fizic de adsorbţie a moleculelor apei sau a altor molecule de lichid, de către moleculele substanţelor hidrofile din celulă, conducând la sporirea masei şi volumului corpului care se îmbibă, în mod ireversibil. Există de asemenea pori proteici pentru apă şi această cale oferă o mare permeabilitate osmotică pentru apă sau conductivitate hidraulică a membranei. Într-un mediu hipotonic (diluat) celulele vegetale devin turgescente. Turgescenţa reprezintă o stare de saturare cu apă a celulei vegetale. Este o stare favorabilă celulei vegetale. Într-un mediu hipertonic (concentrat) celulele vegetale plasmolizează. Plasmoliza reprezintă separarea protoplasmei celulei vegetale de peretele celular, ca rezultat al pierderii de apă din protoplast, prin procesul de exosmoză. Procesul are loc etapizat, parcurgându-se trei faze: plasmoliza incipientă, plasmoliza concavă şi plasmoliza convexă. La nivelul vacuolei ia naştere presiunea osmotică, respectiv forţa care declanşează pătrunderea apei în celula vegetală. Adevărata forţă însă cu care apa este absorbită de către celula vegetală este forţa de sucţiune. Valoarea acesteia se măsoară în atmosfere şi depinde de gradul de hidratare al celulei la un moment. Substanţele dizolvate pot fi transportate fie în mod pasiv, fie în mod activ. Transportul pasiv se realizează fără consum de energie metabolică, conform gradientului de concentraţie şi are la bază difuziunea simplă sau facilitată. Transportul activ se realizează cu consum de energie metabolică şi împotriva gradientului de concentraţie. Transportul activ primar asigură energie pentru transportul activ secundar. Căile de transport a apei şi substanţelor sunt apoplastul şi simplastul. Unele substanţe precum lecitina, acizii graşi şi cardiolipina pot funcţiona ca ionofori. Un alt mod specific de transport este pinocitoza. Plantele realizează de asemenea schimburi de gaze cu mediul extern, în cursul proceselor de fotosinteză şi respiraţie.

3.1. Relaţia celulei vegetale cu apa

În mod fundamental, celula rămâne unitatea centrală care controlează răspunsul plantei faţă de apă.

Proprietăţile celulei se pot modifica şi rezultă astfel aclimatizarea la apa din mediu. Drept consecinţă, unele caracteristici ale plantelor pluricelulare pot fi înţelese numai prin cunoaşterea proprietăţilor celulei.

Apa reprezintă solventul pentru numeroase substanţe anorganice absorbite în principal din soluţia solului (prin intermediul rădăcinilor), dar şi extra-radicular, urmând apoi transportul în plante. Dacă luăm în considerare perişorul absorbant (celulă rizodermică specializată pentru absorbţie) în relaţie cu soluţia solului, când apa se deplasează din sol către plantă, prin plantă şi din plantă către atmosferă, traversează diferite tipuri de medii şi corespunzător acestora mecanismele de transport sunt variate.

3.1.1. Principalele procese care guvernează transportul apei şi căile specifice de transport

Procesele fundamentale de transport a apei sunt:

1) – **difuziunea** – *procesul fizic de deplasare a moleculelor / ionilor* (atât a solventului, cât şi a substanţelor dizolvate), fie că este vorba de un solid, lichid sau gaz, ca rezultat al agitaţiei termice randomizate. Această mişcrae determină o deplasare progresivă a substanţelor *de la o regiune cu o concentraţie mai mare, către o regiune cu o concentraţie mai mică* (în particula difuzibilă luată în considerare), *mediile respective aflându-se în contact direct* (*fig.3.1.*). Procesul este independent de acţiunea forţei de gravitaţie şi direcţia de difuziune a unei substanţe este independentă de direcţia de difuziune a altei substanţe (*fig. 3.2).*

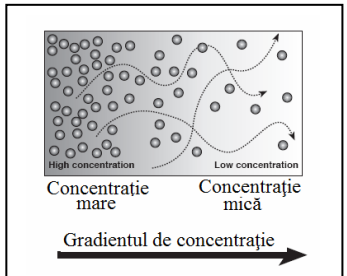


Fig. 3.1. Realizarea difuziunii conform gradientului de concentraţie

Conform legii lui Fick, rata difuziunii este direct proporţională cu gradientul de concentraţie. De asemenea, procesul este rapid în cazul distanţelor mici, în timp ce pe distanţe mari, difuziunea este extrem de înceată.

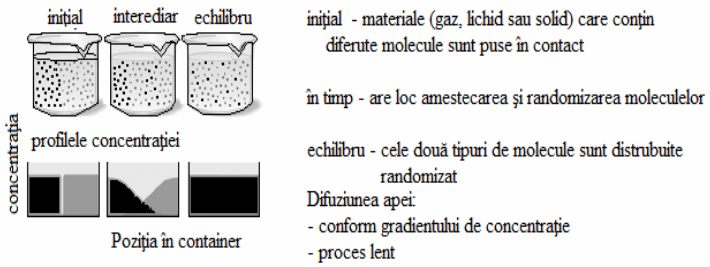

iniţial
intermediar
echilibru
concentraţia
profilele concentraţiei
Poziţia în container
iniţial - materiale (gaz, lichid sau solid) care conţin diferute molecule sunt puse în contact
în timp - are loc amestecarea şi randomizarea moleculelor
echilibru - cele două tipuri de molecule sunt distrubuite randomizat
Difuziunea apei:
- conform gradientului de concentraţie
- proces lent

Fig. 3.2. Mişcarea termală a moleculelor permite difuziunea (după Taiz şi Zeiger, 2002)

$J_s = -D_s \Delta C_s / D_x$ unde:

J_s = rata de transport (moli m^{-2} s^{-1})
D_s = coeficientul de difuziune (moleculele mari au un D mai mic)
ΔC_s = gradientul de concentraţie
D_x = distanţa

2) – **curentul de masă** – „mass flow" sau „bulk flow" – *se referă la deplasarea unui grup de molecule, ca răspuns la un gradient de presiune*. Ca exemple se pot da: deplasarea apei printr-o conductă; curgerea apei în cazul unui râu; căderea ploii sau deplasarea apei prin aquaporine.

Dacă facem referire la curentul de masă printr-un tub, rata acestuia depinde de diametrul tubului, de vâscozitatea lichidului şi de mărimea gradientului de presiune, care guvernează această curgere. Presiunea care guvernează curentul de masă al apei reprezintă componenta principală a mecanismului responsabil de transportul apei pe distanţe mari în plante, pe calea xilemului. Spre deosebire de difuziune, presiunea care guvernează curentul de masă este independentă de gradientul de concentraţie, atâta timp cât modificările vâscozităţii sunt neglijabile. Difuziunea şi curentul de masă constituie totodată exemple ale transportului apei la nivel celular: difuziunea prin membrană, curentul de masă prin aquaporine (*fig. 3.3.*) (Taiz şi Zeiger, 2002).

3) – **osmoza** – *reprezintă un proces fizic de difuziune particulară a apei, transversal printr-o membrană selectiv permeabilă, care separă două medii de concentraţii diferite*. Sensul deplasării moleculelor apei este de la mediul cu potenţial al apei mare (diluat sau hipotonic), către mediul cu potenţial al apei mic (concentrat sau hipertonic).

Membrana selectiv permeabilă (ex plasmalema şi tonoplastul) este cea care permite trecerea apei şi a altor substanţe cu moleculă mică, neîncărcate electric (precum dioxidul de carbon, oxigenul). Ea funcţionează selectiv pentru deplasarea substanţelor cu moleculă mare şi cu precădere a celor încărcate electric.

Asemenea proceselor de difuziune şi curentului de masă, în cazul osmozei intervine o forţă conducătoare. Aceasta reprezintă o sumă a celor două forţe menţionate anterior (gradient de concentraţie şi gradient de presiune). S-a dezvoltat conceptul unei forţe totale, reprezentată de **gradientul potenţialului apei.**

Potenţialul apei (ψ_w) se referă direct la potenţialul chimic al apei şi asemenea potenţialului chimic este o cantitate relativă, care depinde de trei factori: concentraţie (ψ_s), presiune (ψ_p) şi gravitaţie (ψ_g).

Potenţialul apei (ψ_w) = $\psi_s + \psi_p + \psi_g$

ψ_s = potenţialul soluţiei sau potenţialul osmotic;

Acest potenţial este datorat concentraţiei în substanţe dizolvate (electrolite şi ne-electrolite) şi cu cât este mai mare concentraţia substanţelor, cu atât potenţialul apei este mai mic.

$\psi_s = - RTC_s$ unde R - constanta gazelor 8,32 J mol $^{-1}K^{-1}$
T - temperatura absolută
C_s - concentraţia soluţiei mol L^{-1}

ψ_p = presiune hidrostatică (potenţial de presiune), care la celula vegetală se numeşte presiune de turgescenţă;

Potenţialul de presiune se datorează presiunii hidrostatice şi are o valoare pozitivă. În cazul celulelor plasmolizate, valoarea sa este zero, în timp ce în cazul vaselor lemnoase în timpul unei transpiraţii intense, valoarea este negativă.

$\psi_g = \rho_w gh$ unde ρ_w : densitatea apei
h: înălţime
g: gravitaţie
$\rho_w g$ = 0,01 MPa m^{-1} ; 10 m: 0,1 MPa

În mod arbitrar, *potenţialul apei pure este notat cu valoarea 0 MPa.* Potenţialul apei unei probe se defineşte relativ la potenţialul apei pure. Cu cât este mai mare "concentraţia" apei într-o soluţie, cu atât potenţialul apei este mai mare.

Deoarece moleculele apei sunt caracterizate prin coeziune, ele interacţionează cu alte molecule şi cu ionii din soluţie. Interacţiunea cu substanţele întârzie procesul de deplasare a apei, în mod proporţional cu concentraţia. Efectul substanţelor dizolvate asupra potenţialului apei unei soluţii este acela de a-l reduce, prin reducerea concentraţiei apei. Deci, pentru o soluţie, potenţialul apei (ψ_w) va prezenta semnul minus (-).

În privinţa potenţialului de presiune (ψ_p), dacă apa nu difuzează, ea se poate deplasa numai sub o presiune. Apa poate fi împinsă (presiune pozitivă) sau trasă (presiune negativă) (*fig.3.4.*), iar potenţialul de presiune poate fi o valoare pozitivă sau negativă.

De obicei, potenţialul gravitaţional (ψ_g) este eliminat din relaţia potenţialului apei, deoarece câteva plante sunt destul de înalte pentru ca gravitaţia să aibă vreun efect.

La modul simplificat, ecuaţia potenţialului apei poate fi redată astfel:

(ψ_w) = $\psi_s + \psi_p$

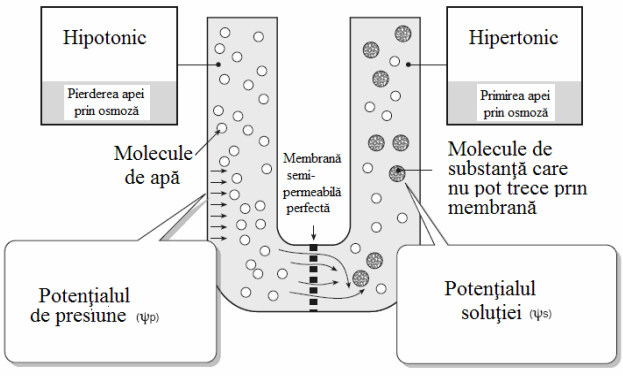


Fig.3.4. Realizarea procesului de osmoză

Diferitele valori ale potenţialului apei pot fi observate în *fig. 3.5* (Taiz şi Zeiger, 2006). Pentru plantă ψ_w guvernează transportul apei între diferite celule şi ţesuturi, constituind totodată un indicator fiziologic important. Celulele şi ţesuturile plantelor trebuie să menţină acest indicator la valori normale, pentru propriul echilibru hidric, iar factorii de stres perturbă proporţionalitatea acestor valori.

Unele lucrări menţionează şi potenţialul de matrix (ψ_m) sau presiunea de imbibiţie, care se referă la afinitatea pentru apă a substanţelor de natură coloidală, a suprafeţelor pereţilor celulari, precum şi a materialului protoplasmatic. Potenţialul de matrix are valori mari în cazul celulelor lipsite de vacuolă, iar la celulele care posedă vacuolă, valorile acestuia sunt neglijabile.

În ceea ce priveşte posibilităţile de determinare a potenţialului apei pot fi folosite diferite metode, precum:

- folosolirea psichrometrului
- folosirea camerei de presiune
- metoda crioscopică etc.

Pe baza valorilor potenţialului apei, se poate caracteriza starea celulelor din punct de vedere a hidratării, în diferite ţesuturi şi organe. Spre exemplu, frunzele plantelor mezofile au un potenţial al apei de -10 bari, în timp ce la xerofite acesta este de -15 bari.

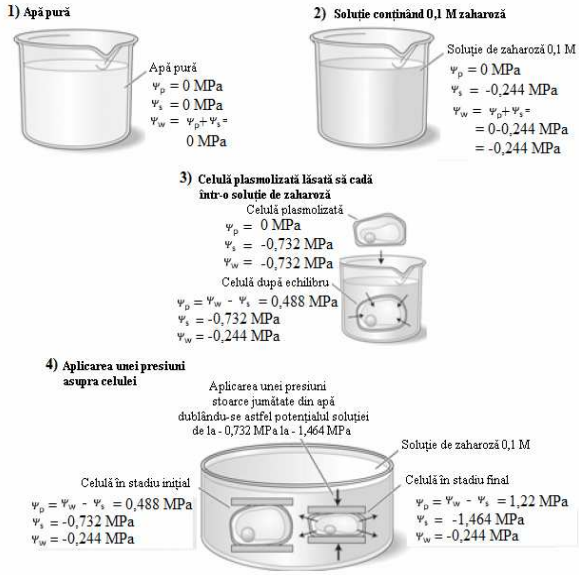

1) Apă pură
Apă pură
Ψp = 0 MPa
Ψs = 0 MPa
Ψw = Ψp+Ψs= 0 MPa
2) Soluţie conţinând 0,1 M zaharoză
Soluţie de zaharoză 0,1 M
Ψp = 0 MPa
Ψs = -0,244 MPa
Ψw = Ψp+Ψs= = 0-0,244 MPa = -0,244 MPa
3) Celulă plasmolizată lăsată să cadă într-o soluţie de zaharoză
Celulă plasmolizată
Ψp = 0 MPa
Ψs = -0,732 MPa
Ψw = -0,732 MPa
Celulă după echilibru
Ψp = Ψw - Ψs = 0,488 MPa
Ψs = -0,732 MPa
Ψw = -0,244 MPa
4) Aplicarea unei presiuni asupra celulei
Aplicarea unei presiuni stoarce jumătate din apă dublându-se astfel potenţialul soluţiei de la - 0,732 MPa la - 1,464 MPa
Soluţie de zaharoză 0,1 M
Celulă în stadiu iniţial
Ψp = Ψw - Ψs = 0,488 MPa
Ψs = -0,732 MPa
Ψw = -0,244 MPa
Celulă în stadiu final
Ψp = Ψw - Ψs = 1,22 MPa
Ψs = -1,464 MPa
Ψw = -0,244 MPa

Fig.3.5. Diferite valori ale potenţialului apei şi ale componentelor sale

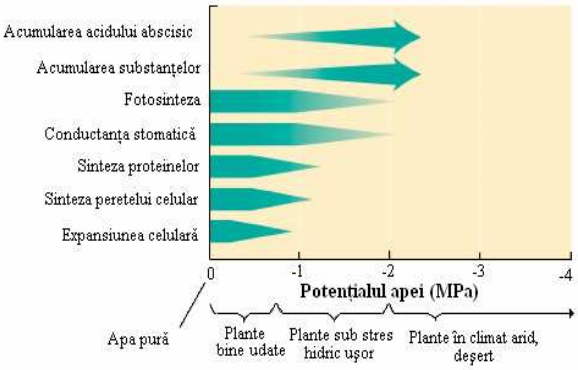


Fig.3.6. Modificări fiziologice cauzate de schimbări ale potenţialului apei

Modificările potenţialului apei la nivel celular implică de asemenea modificări fiziologice (*fig. 3.6.*).

4) – imbibiţia – *reprezintă procesul fizic de adsorbţie a moleculelor apei sau a altor molecule de lichid de către moleculele substanţelor hidrofile din celulă* (celuloză, amidon, proteine şi alte substanţe de natură coloidală), *conducând la sporirea masei şi volumului corpului care se îmbibă, în mod reversibil.*

Un exemplu comun al imbibiţiei este imbibiţia seminţelor, ca primă etapă a pătrunderii apei în seminţe puse la germinat.

Trebuie menţionat faptul că, spre deosebire de osmoză, în cazul imbibiţiei:
- sunt adsorbite atât apa, cât şi substanţele;
- nu este esenţială prezenţa unei membrane cu permeabilitate diferenţială;
- apa este adsorbită atât sub formă lichidă, cât şi sub formă de vapori;
- în cursul procesului se generează căldură;
- în cazul seminţelor îmbibate se dezvoltă o presiune de imbibiţie care poate atinge 1000 atm.

3.1.2. Pătrunderea apei în celula vegetală şi generarea stării de turgescenţă

Dacă luăm în considerare perişorul absorbant, peretele celular al acestuia reprezintă prima structură care ia contact cu soluţia solului.

O primă etapă a pătrunderii apei este realizată printr-un proces pur hidraulic, realizându-se un curent transversal prin *porii pereţilor celulari*. Peretele celular este total permeabil pentru apă şi substanţe. El asigură contactul direct dintre soluţia solului şi soluţia din spaţiul extraplasmatic. Prin urmare, la baza acestui transport stă *procesul de difuziune*, iar calea se denumeşte **cale prin apoplast.** Ea cuprinde transportul prin peretele celular, dar şi prin spaţiile intercelulare.

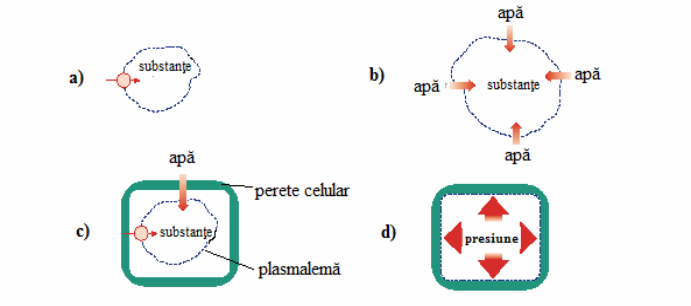
O a doua etapă este cea a traversării plasmalemei. *Traversarea plasmalemei* în sensul perete celular, către citosol se realizează prin osmoză, dacă ψ apei din soluţia solului este mai mare decât ψ apei din citosol. Deci, apa se deplasează de la o zonă cu mare presiune de difuziune a apei, către zona cu presiune de difuziune a apei mai mică. Spunem că deplasarea apei printre moleculele de fosfolipide se va realiza *conform gradientului potenţialului apei*. De asemenea, traversarea plasmalemei se poate realiza şi prin intermediul unor canale proteice pentru apă (aquaporine) printr-un proces pasiv, fără consum de energie metabolică.

La nivelul citosolului, apa se deplasează conform legilor difuziunii. Pentru a ajunge în vacuolă, moleculele apei traversează tonoplastul, asemenea modului de traversare a plasmalemei.

Deoarece la nivelul celulei, în sucul vacuolar se găseşte o concentraţie mai mare de substanţe osmotic active (care au capacitatea de a atrage apa), moleculele de apă se vor deplasa înspre această zonă. Ca urmare, vacuola îşi măreşte volumul, presează asupra citoplasmei şi aceasta la rândul ei presează asupra peretelui celular. Plasmalema se lipeşte de peretele celular şi celula vegetală devine turgescentă.

Din acest punct de vedere, un rol deosebit revine ionului de potasiu (K^+). În celula vegetală acesta se găseşte în două locuri principale: în vacuolă şi în citosol. Cea mai mare cantitate este localizată în vacuolă, loc unde are o funcţie pur biofizică, pentru generarea pătrunderii apei în celulă, respectiv generarea turgescenţei şi extensiei celulare. În citosol, potasiul are atât rol osmotic, cât şi roluri biochimice (Walker şi al., 1996).

Turgescenţa *reprezintă o stare de saturare cu apă a celulei vegetale.* Generarea presiunii de turgescență este redată în *figura 3.7.*(Pritchard, 2001).



a) substanţele sunt transportate activ, transversal prin membrana semipermeabilă a protoplastului
b) apa traversează membrana prin osmoză determinând mărirea suprafeţei protoplastului
c) în celula vegetală, substanţele şi apa se acumulează în protoplastul înconjurat de peretele celular
d) extinderea protoplastului restricţionată de peretele celular generează presiunea de turgescenţă

Fig. 3.7. Generarea presiunii de turgescenţă în celula vegetală

Importanţa fiziologică a stării de turgescenţă la celula vegetală:

1) ► asigură condiţiile optime pentru desfăşurarea tuturor proceselor vitale;

2) ► asigură menţinerea poziţiei erecte a plantelor ierboase, precum şi poziţia specifică a tulpinilor, lăstarilor tineri şi a limbului frunzelor;

3) ► are rol în realizarea mişcării de deschidere şi închidere a ostiolelor stomatelor;

4) ► intervine în realizarea a diferite mişcări la plante (ex. seismonastii la *Mimosa pudica*);

5) ► are rol în procesul de extensie celulară etc.

3.1.2.1. Aquaporinele – descoperire, dovezi ale existenţei lor şi importanţă

Descoperirea aquaporinelor

Cea mai importantă descoperire pentru înţelegerea conductanţei celulelor vii este descoperirea unei clase de canale proteice pentru apă, numite aquaporine (Maurel şi Chrispeels, 2001).

Aquaporinele aparţin unei familii de proteine integrale majore (MIPs), a căror masă moleculară este cuprinsă între 26-30 kDa. Astfel de proteine sunt proteine integrale majore, prezente în plasmalemă - PIP, dar şi în tonoplast- TIP sau alte membrane - MIP (*fig. 3.8.*).

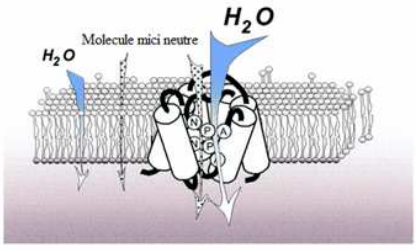


Fig. 3.8. Model al aquaporinelor (după Maurel şi Chrispeels, 2001)

La *Arabidopsis* s-a raportat un set de 38 aquaporine, divizate în patru subfamilii din larga familie MIP, ca bază pentru nomenclatura PIP, TIP şi NIP, indicând şi localizarea subcelulară (plasmalemă, tonoplast), respectiv noduli (Kaldenhoff şi al., 2007).

Prima proteină depistată a forma un canal selectiv pentru apă a fost AQP1, abundentă în eritrocite şi plasmalema a diferite celule epiteliale (Tzerman şi al., 1999).

La plante, s-a clonat şi s-a exprimat funcţia primei aquaporine în 1993. Prin tehnici de imunolocalizare s-a găsit a fi situată în plasmalemă şi respectiv tonoplast (PIPs şi TIPs). Dar, şi alte endomembrane au MIPs, care funcţionează ca aquaporine (ex. proteina NOD26 din membrana simbiozomului la soia).

În general, se acceptă faptul că aquaporinele funcţionează ca pori sau canale, prin care apa se transportă pasiv. Pe această cale, se asigură o mare permeabilitate osmotică (Po) pentru apă sau conductivitate hidraulică (Lp) a membranei (Vandeleur, 2007; Cavez şi al., 2009). Unele canale au o selectivitate sporită pentru apă, fapt ce justifică şi numele de aquaporine (γ –TIP şi α- TIP) (Maurel şi al., 1995). Altele permit trecerea ne-electroliţilor, precum ureea (AQP3) (Ishibashi şi al., 1997) sau sunt specifice pentru neelectroliţi (pentru glicerol la *Escherichia coli*). Alte MIP sunt relativ neselective şi permit de asemenea trecerea ionilor (NOD26) (Weaver şi al., 1994).

Având în vedere dificultatea măsurării permeabilităţii pentru apă în canale individuale (apa nefiind încărcată electric) şi backgroundul permeabilităţii bistratului lipidic pentru apă fiind relativ mare, comparativ cu folosirea tehnicii electrofiziologice („patch – clamping”) în cazul ionilor, aici s-a introdus un alt parametru şi anume *coeficientul de reflecţie* (σ). Acesta este o măsură a selectivităţii pasive a membranelor pentru substanţe, relativ la apă. Coeficienţii de reflecţie sunt relevanţi când se apreciază selectivitatea aquaporinelor, prin testarea unor substanţe. Mercurul şi agenţii sulfhidril blochează în general aquaporinele.

Dovezi ale existenţei aquaporinelor

Un prim indiciu al activităţii canalelor pentru apă este o valoare mare a permeabilităţii osmotice pentru apă (P_{os}). P_{os} mai mare de $10 * 10^{-6}$ m s^{-1} este reprezentativă pentru permeabilitatea pentru apă, la trecerea printre moleculele lipidice (în relaţie cu compoziţia specifică a acestora).

Pentru membranele care posedă canale pentru apă, P_{os} este cuprinsă între $100 – 2000 * 10^{-6}$ m s^{-1} . Permeabilitatea osmotică pentru apă (P_{os}) trebuie să fie mai mare decât permeabilitatea difuzională (P_d) pentru apă. Raportul P_{os}/P_d reprezintă o caracteristică a căii predominante de transport a apei. O valoare egală cu 1 este tipică pentru difuziunea independentă printre moleculele fosfolipidice, în timp ce membranele care conţin canale proteice pentru apă prezintă un raport mai mare decât unitatea.

Deoarece curentul de apă care traversează plasmalema este condus atât osmotic, cât şi urmare a gradientului de presiune (care are o pondere mare), volumul de apă care traversează iniţial membrana poate fi mare. Spre deosebire de aceasta, la traversarea tonoplastului, gradientul potenţialului osmotic poate fi mai mic, constrâns de extensia până la care citoplasma îşi poate modifica volumul. Una dintre căile prin care poate fi compensat acest dezechilibru şi care permite vacuolei să fie un tampon rapid pentru citoplasmă (prevenind modificarea volumului acesteia, care în consecinţă ar dăuna citoscheletului dar şi metabolismului) ar fi ca tonoplastul să aibă o conductivitate pentru apă (L_p) mult mai mare, comparativ cu plasmalema. Situaţia model, cu o permeabilitate mai mare a tonoplastului, comparativ cu plasmalema este susţinută de măsurătorile raportului L_p plasmalemă: L_p tonoplast, care s-a demonstrat a fi de 1:7 la grâu şi 1:100 la suspensii de celule de tutun.

Importanţa fiziologică a aquaporinelor

Funcţia principală a aquaporinelor se crede a fi cea de a spori rata de transport transmembranal a apei, dar pe lângă aceasta, sunt transportate şi alte molecule mici cu importanţă fiziologică (Hill şi al., 2004).

La nivel de ţesut, aquaporinele reprezintă o alternativă la transportul prin apoplast şi simplast. De asemenea, se sugerează faptul că transportul transmembranal poate prezenta relevanţă în legătură cu multe procese, altele decât cele cu privire la transpiraţie. Spre exemplu, anumiţi cercetători au descris reglarea expresiei aquaporinelor în flori, pe parcursul maturării seminţelor şi a germinării.

Reproducere
Elongaţia celulară
Mişcarea celulelor de gardă ale stomatelor şi pulvinulilor
Reglarea turgescenţei şi volumului celulei
Curentul de trasnpiraţie şi reumplerea în cazul embolismului
Circulaţia apei între xilem şi floem
Nutriţie minerală
Răspuns la uscăciune şi salinitate

Fig. 3.9. Implicarea aquaporinelor în diferite procese fiziologice la plante

Aquaporinele asigură markeri spaţiali valabili pentru a explora cursul apei şi substanţelor, care joacă un rol critic pentru dezvoltarea plantei sau pentru răspunsul plantei la diferiţi factori de stres biotic sau abiotic (*fig. 3.9.*) (Maurel şi Christeels, 2001).

Cercetările efectuate de către Aharom şi al. (2003) la *Arabidopsis* (tipul sălbatic şi transformat genetic) au demonstrat faptul că în condiţii favorabile de creştere, expresia PIP1b a sporit semnificativ rata de creştere a plantei, rata transpiraţiei, densitatea stomatică şi eficienţa fotosintezei. În contrast însă, expresia PIP1b nu a avut nici un efect în condiţii de stres salin, în timp ce în cazul stresului hipohidric a avut efect negativ, cauzând ofilirea mai rapidă. Rezultatele au condus la sugestia că transportul apei pe calea aquaporinelor din plasmalemă reprezintă un factor limitativ pentru creşterea şi vigoarea plantei în condiţii favorabile. În schimb, favorizarea transportului prin aquaporinele din plasmalemă poate să nu aibă un efect benefic în cazul stresului salin şi să fie dăunător pe parcursul stresului hidric.

3.1.3. Plasmoliza – generare, importanţă

Plasmoliza reprezintă separarea protoplasmei celulei vegetale de peretele celular, ca urmare a pierderii de apă din protoplast, prin procesul de exosmoză. Plasmoliza apare în natură în condiţii extreme. În laborator este indusă prin imersarea unei celule vegetale într-o soluţie hipertonică (puternic salină sau bogată în glucide), situaţie în care apa este pierdută prin exosmoză.

Dacă soluţia solului este mai concentrată în substanţe dizolvate (este hipertonică), respectiv ψ_w este mai redus, comparativ cu ψ_w sucului vacuolar celular, apa va părăsi celula printr-un curent exosmotic.

Un prim indiciu al manifestării acestui fenomen este desprinderea plasmalemei de peretele celular, uşor, pe la colţurile celulei, aceasta fiind considerată prima fază a plasmolizei, denumită *plasmoliză incipientă*. Pe măsură ce apa părăseşte celula, plasmalema se desprinde mai pronunţat, iar aceasta a doua fază este denumită *plasmoliză concavă*, stelată sau neregulată. La un moment dat, conţinutul celular ia o formă aproape sferică şi plasmalema se desprinde aproape total de peretele celular. Plasmalema mai rămâne prinsă prin firişoare Hecht (firişoare asemenea firului de păr) care asigură conexiunea dintre peretele celular şi plasmalemă (Buer şi al., 2000). Aceasta, a treia fază a plasmolizei este denumită *plasmoliză convexă*, sferică sau regulată (*fig. 3.10.*).

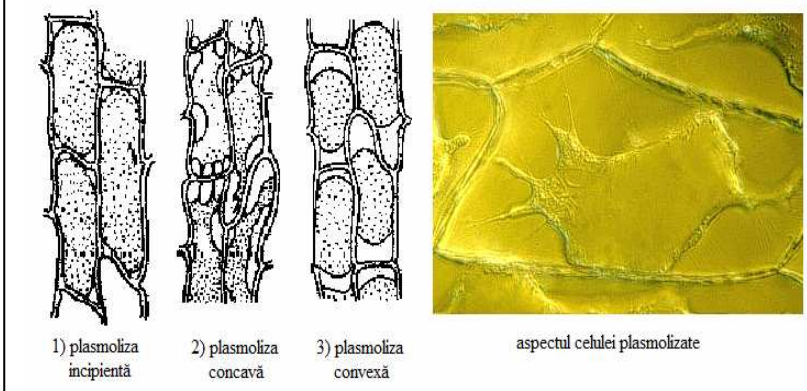
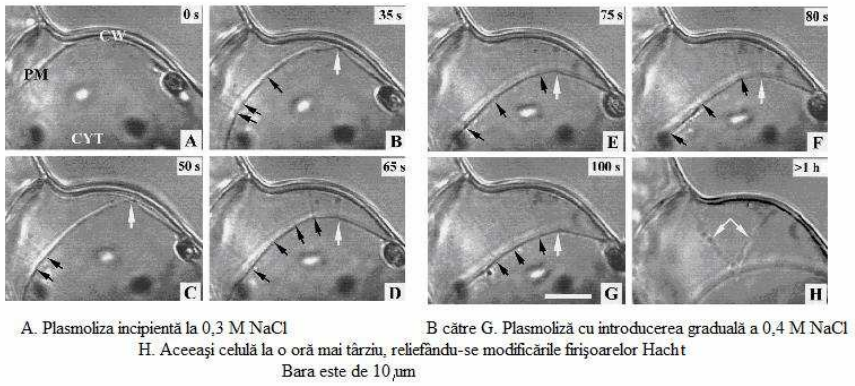


Fig. 3.10. Plasmoliza la epiderma de ceapă

În cursul plasmolizei celulelor, se pot detecta firişoarele descoperite de Hecht (1912) (*fig. 3.11.*).

În cazul ţesutului epidermei de ceapă imersat într-o soluţie de azotat de calciu, plasmoliza are loc pentru că ionii de calciu şi azotat străbat uşor peretele celular şi întâmpină selectivitatea plasmalemei. Vacuola poziţionată în centrul celulei, iniţial conţine o soluţie diluată, cu o presiune osmotică mai scăzută decât cea a soluţiei de azotat de calciu, poziţionată de cealaltă parte a membranei. Vacuola pierde apă şi se micşorează. Spaţiul dintre plasmalemă şi peretele celular se măreşte, iar protoplasma se contractă către centrul celulei. Rămân firişoare ale plasmalemei, ca puncte de prindere de peretele celular. Dacă celulele plasmolizate nu sunt transferate rapid din mediul respectiv în apă, pentru a avea loc deplasmoliza (revenirea la starea de turgescenţă), celulele mor.



A. Plasmoliza incipientă la 0,3 M NaCl
B către G. Plasmoliză cu introducerea graduală a 0,4 M NaCl
H. Aceeaşi celulă la o oră mai târziu, reliefându-se modificările firişoarelor Hacht
Bara este de 10 µm

Fig. 3.11. Formarea firişoarelor Hecht pe parcursul plasmolizei, la culturi de calus de *Nicotiana tabacum* (după Buer şi al., 2000)

Plasmoliza se concretizează deci prin desprinderea plasmalemei de peretele celular din cauza exosmozei apei, *iar o celulă vegetală plasmolizată este o celulă aflată într-o stare de nesaturare cu apă*.

Importanţa fiziologică a plasmolizei

1) ► plasmoliza are efecte nefavorabile asupra celulei vegetale şi intervine în situaţia unor condiţii de stres (în caz de secetă, în situaţia aplicării în exces a îngrăşămintelor chimice etc.);
2) ► din punct de vedere practic însă, prin metoda plasmolizei se pot efectua anumite determinări legate de stabilirea unor indicatori fiziologici:
a) ● se poate determina viabilitatea celulelor, cunoscut fiind faptul că numai celulele vii plasmolizează;
b) ● se poate determina gradul de vâscozitate al citoplasmei, pe baza stabilirii timpului de plasmoliză (respectiv a intervalului de timp scurs de la plasarea materialului biologic într-un plasmolizant şi instalarea plasmolizei convexe). Cu cât timpul de plasmoliză este mai mare, se apreciază că gradul de vâscozitate al citoplasmei este mare, în timp ce un timp de plasmoliză scurt indică un grad mai redus de vâscozitate.
c) ● metoda plasmolizei incipiente constituie una dintre modalităţile indirecte de determinare a valorii presiunii osmotice a sucului vacuolar celular;
d) ● un caz deosebit de plasmoliză este cel denumit *plasmoliză de iarnă*, plasmoliză indusă de condiţiile de mediu din perioada iernii, când încetinirea absorbţiei apei din sol şi a eliminării ei prin transpiraţie conduce la concentrarea sucului vacuolar şi la creşterea rezistenţei la îngheţ. Este aşa numitul proces de individualizare a protoplasmei.
e) ● prin provocarea în condiţii de laborator a unei plasmolize avansate speciale denumită *plasmoliză în calotă,* se poate aprecia gradul diferit de selectivitate a membranelor (tonoplastul este mai selectiv, decât plasmalema).

3.1.4 Relaţiile dintre diferite forţe, relativ la starea de hidratare a celulei vegetale la un moment dat

Presiunea osmotică este forţa care se declanşează în vacuolă (ca urmare a acumulării în acest compartiment celular a glucidelor solubile, acizilor organici, substanţelor minerale etc.) şi care determină ca ψ_w sucului vacuolar să fie mai mic, decât ψ_w soluţiei externe. De altfel, presiunea osmotică se defineşte ca diferenţa dintre presiunea de difuziune a apei pure şi presiunea de difuziune a apei dintr-o soluţie (sau deficitul presiunii de difuziune).

Presiunea osmotică se exprimă în atmosfere, bari sau Pascali:

1 atmosferă = 760 mm Hg (la nivelul mării, 45^0 latitudine)
= 1,01325 bari
= $1{,}013 * 10^5$ Pa
= 0,1013 MPa

Valoarea acestei forţe poate fi determinată prin diferite metode (metoda plasmolizei incipiente, metoda crioscopică, folosirea camerei de presiune etc.) şi variază cu specia, organul, starea fiziologică, condiţiile atmosferice etc. În general, se determină valori cuprinse între 1-3 bari (la plante hidrofile), până la peste 100 bari (la plante xerofile). Pentru organele unei plante, valorile minime se înregistrează la rădăcină (0,5-5 bari), iar cele maxime la fructe (40 bari).

Deşi absorbţia apei în celula vegetală este declanşată de presiunea osmotică a sucului vacuolar, cantitatea de apă pătrunsă în celulă este determinată de presiunea de turgescenţă şi presiunea peretelui celular. Valorile celor două forţe sunt egale şi de semn contrar. Relaţiile dintre diferitele forţe implicate sunt redate în graficul lui Höfler (1918) (*fig. 3.12.*).

Se remarcă aşa numita **forţă de sucţiune**, de fapt presiunea osmotică activă, adevărata forţă cu care celulele „sug" apa şi care este *caracteristică doar celulei vegetale cu perete celular celulozo- pectic şi cu vacuolă*. Această forţă nu se regăseşte la soluţii şi poate fi exprimată prin următoarea relaţie:

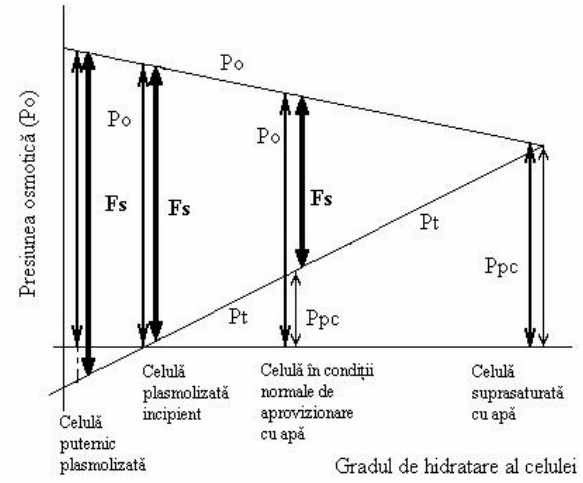


Fig. 3.12. Reprezentarea schematică a relaţiilor dintre forţa de sucţiune (Fs), presiunea osmotică (Po), presiunea de turgescenţă (Pt) şi presiunea peretelui celular (Ppc)

$F_s = P_o - P_{pc}$ (P_t)

unde:

F_s = Forţa de sucţiune
P_o = Presiunea osmotică
P_{pc} = Presiunea peretelui celular
P_t = Presiunea de turgescenţă

Valorile acestei forţe sunt variabile, în raport cu starea de hidratare a celulei vegetale la un moment dat.

Astfel, în cazul unei celule puternic plasmolizate (1):

$F_s = P_o + F_{icp}$ (forţa de imbibiţie a coloizilor plasmatici)

La celula vegetală aflată în plasmoliză incipientă (2): $F_s = P_o$

La celula vegetală aflată în condiţii normale de hidratare (3):

$F_s = P_o - P_t$ (P_{pc})

La celula vegetală suprasaturată cu apă (4): $F_s = 0$

Cunoaşterea valorilor forţei de sucţiune a celulei vegetale prezintă importanţă practică:
► constituie un indicator al gradului de hidratare al celulelor la un moment dat şi se utilizează pentru stabilirea momentului de aplicare a irigaţiilor.

3.2. Pătrunderea şi transportul substanţelor dizolvate în celula vegetală

Plantele se caracterizează prin capacitatea de a menţine la nivelul mediului lor intern, o compoziţie diferită de cea a mediului din jurul lor, chiar dacă în cazul celui din urmă intervin modificări rapide sau extreme. De asemenea, are loc o mişcare permanentă a moleculelor şi ionilor între plantă şi mediu, ceea ce permite plantelor să acumuleze substanţe nutritive, iar pe de altă parte să elimine produşi ai metabolismului.

Transportul substanţelor poate să fie realizat:

▲ între mediul extern şi o celulă (ex. absorbţia substanţelor nutritive din soluţia solului, la nivelul perişorului absorbant; absorbţia extra-radiculară);

▲ transportul la nivel celular;

▲ transportul la nivel de plantă,între diferite puncte (ex. transport prin xilem şi floem).

În cele ce urmează, vor fi abordate *principalele procese* care guvernează absorbţia substanţelor de către celula vegetală, precum şi transportul celular şi intercelular al acestora.

3.2.1 Transportul pasiv şi activ al substanţelor

Considerăm perişorul absorbant, în relaţie cu soluţia solului.

La nivelul solului sărurile minerale sunt fie sub formă dizolvată în soluţia solului, fie sub formă adsorbită pe coloizii din sol. Trebuie precizat că absorbţia şi adsorbţia sunt două fenomene diferite. *Absorbţia* reprezintă procesul fiziologic prin care ionii sau moleculele pătrund în celulă printr-o membrană şi nu este doar un fenomen de suprafaţă, în timp ce *adsorbţia* este un proces fizic, care constă în procesul de acumulare a moleculelor, ionilor pe suprafaţa de contact.

Absorbţia sărurilor se realizează sub formă ionică (cationi şi anioni).

► În soluţia solului, *substanţele* se deplasează conform gradientului de concentraţie, pe baza procesului de difuziune. Acestea *iau contact cu peretele celular* al perişorului absorbant, care este permeabil *şi permite difuziunea substanţelor*. Substanţele pot ulterior să traverseze plasmalema, pentru a pătrunde în celulă sau pot să difuzeze prin peretele celular, în vederea transportului intercelular, trecând în peretele celular al celulei vecine (cale prin apoplast).

Un astfel de transport, denumit ***transport pasiv*** nu implică un consum de energie metabolică. El este guvernat de potenţialul chimic al substanţelor, ca sumă a tuturor forţelor care permit unei molecule să se deplaseze întotdeauna de la zona cu potenţial chimic mare (zona concentrată în respectiva substanţă), către zona cu potenţial chimic mai mic (zona diluată în respectiva substanţă). În cazul de faţă, forţa conducătoare a procesului de difuziune este diferenţa dintre potenţialul chimic al soluţiilor din interiorul celulei şi soluţia solului.

► *Traversarea plasmalemei* poate fi realizată pe două căi:

● transport *pasiv* – fără consum de energie metabolică, având la bază difuziunea şi realizându-se conform gradientului de concentraţie;

● transport *activ* – cu consum de energie metabolică şi împotriva gradientului de concentraţie.

3.2.1.1. Transportul pasiv prin membranele biologice

Difuziunea simplă reprezintă una dintre căile de transport pasiv şi constă în aceea că moleculele traversează membrana cu sau fără ajutorul unor canale proteice. Canalele proteice sunt de altfel proteine membranale integrale, care îşi pot modifica continuu starea lor conformaţională (se deschid sau se închid). În situaţia în care nu sunt implicate canale proteice, deplasarea moleculelor se realizează în funcţie de solubilitatea lor în faza lipidică membranală (*fig.3.13.*).

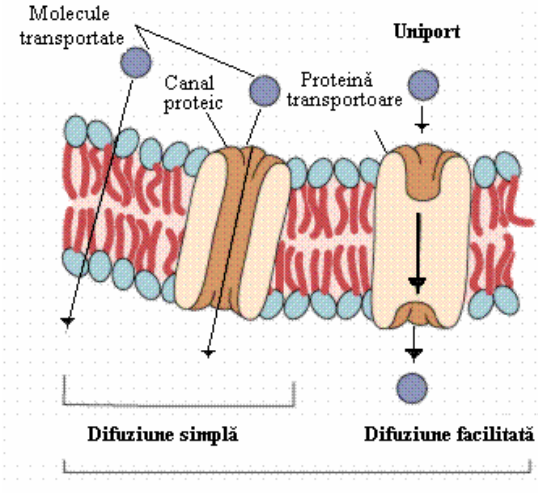


Fig. 3.13. Transportul transmembranal pasiv

Având în vedere particularităţile structurale ale membranelor biologice, moleculele nepolare precum O_2 traversează foarte rapid, iar pentru molecule polare mici (H_2O, CO_2, glicerol etc.) permeabilitatea este mai redusă. Dacă în cazul apei permeabilitatea este neobişnuit de mare (având în vedere interacţiunile puternice cu grupările polare ale lipidelor), pe măsură ce creşte mărimea şi polaritatea moleculelor, permeabilitatea pentru acestea scade.

Difuziunea facilitată se consideră a avea loc când moleculele sunt transportate prin intermediul unor *transportori proteici*. Într-o astfel de situaţie, se asigură o rată de transport apreciabil mai mare, comparativ cu cea realizată în funcţie de solubilitatea lipidică a moleculei. De asemenea, acest proces este specific pentru un singur ion sau specii de molecule, ori pentru un singur grup de molecule (Taiz şi Zeiger, 2002) (*fig. 3.14.*).

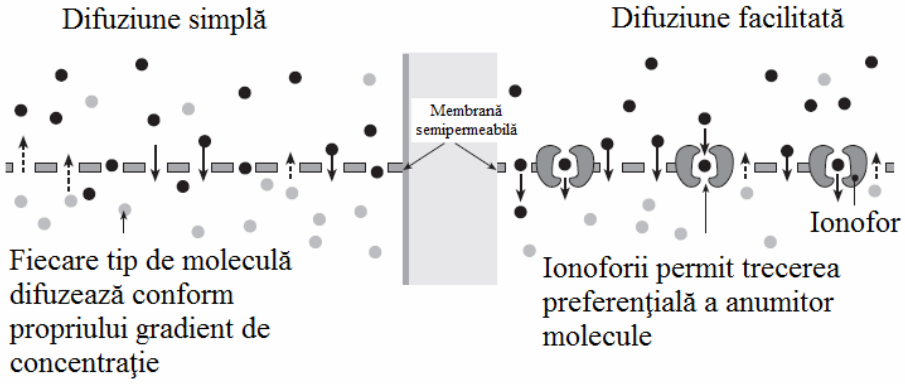

Difuziune simplă
Difuziune facilitată
Membrană semipermeabilă
Ionofor
Fiecare tip de moleculă difuzează conform propriului gradient de concentraţie
Ionoforii permit trecerea preferenţială a anumitor molecule

Fig. 3.14. Difuziunea prin membrană a substanţelor

3.2.1.2 Transportul activ prin membranele biologice

Transportorii care mediază transportul activ sunt denumiţi adesea pompe. Transportul se realizează cu consum de energie metabolică şi împotriva gradientului de concentraţie. Potenţialul membranal sau gradientul electrochimic generat de **transportul activ primar** asigură energie pentru **transportul activ secundar** (Taiz şi Zeiger, 2002) (*fig. 3.15.*). Pe lângă aşa numitele pompe, mai sunt şi alte două categorii de transportori: cotransportori şi canale (*fig.3.16.).*

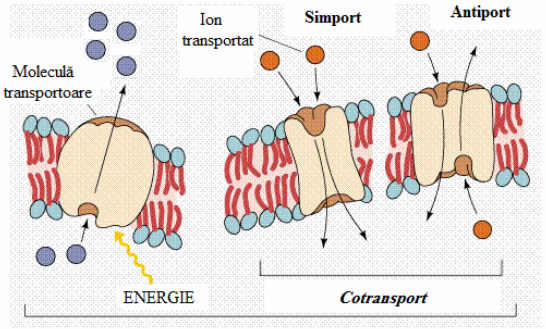


Fig. 3.15. Transportul transmembranal activ

Distincţia între transportul activ şi cel pasiv se poate realiza prin măsurători ale concentraţiilor şi ale potenţialului transmembranal. Spre exemplu, pentru substanţe neelectrolite, se poate stabili dacă au pătruns în celule sau dacă au fost eliminate de celulă în mod activ, ori pasiv, măsurând concentraţiile interne şi externe ale acestora. În cazul ionilor care posedă sarcină electrică, la testul anterior se adaugă considerarea potenţialului membranal.

Potenţialul membranal este dat în principal de transportul electrogenic al protonilor. Când un ion se deplasează în celulă sau părăseşte celula, fără deplasarea unei sarcini electrice opuse, transmembranal se crează un voltaj. Acest tip de transport este denumit transport electrogenic, se realizează cu consum de energie metabolică, adesea prin hidroliza ATP. Transportorii care mediază transportul electrogenic se numesc *pompe electrogene*.

ATP-azele includ pompa de protoni din plasmalema celulelor plantelor, iar eliminarea protonilor (H^+) pare a fi principalul flux ionic electrogenic trans-plasmalemă (*fig. 3.17.*).

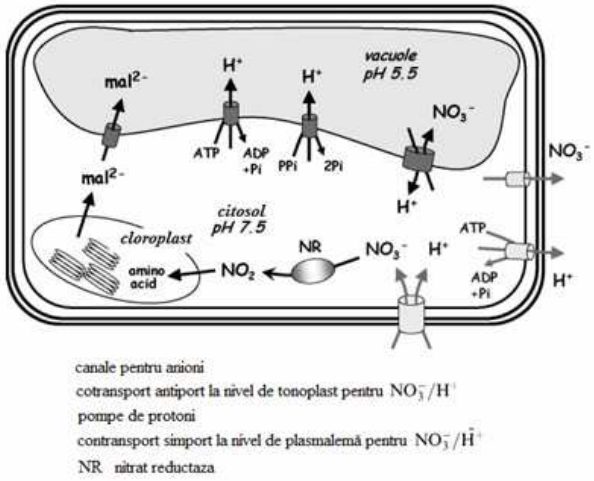


Fig. 3.16. Reprezentarea schematică a unor canale pentru ioni şi a unor transportori

Primă etapă în privinţa caracterizării moleculare a pompei de protoni a fost făcută de către Hodges şi al. (1972) (citat de Serrano, 1990). Desigur, proprietăţile principalelor pompe de protoni din celula vegetală a plantelor superioare (H^+- ATP aza din plasmalemă; H^+- ATP aza şi H^+-pirofosfataza din tonoplast) sunt diferite atât în privinţa structurii, mecanismului de acţiune etc. (Hall şi Williams, 1991; Silva şi al., 2010). Mitchell a introdus termenul de chemiosmoză, pentru a explica legătura dintre gradientul potenţialului electrochimic a protonilor, transversal membranei selectiv permeabile şi performanţa de se face un lucru celular (Harold, 1986). În plante, gradienţii de H^+ au rol în transportul transmembranl prin plasmalemă şi tonoplast, precum şi în transportul şi sinteza ATP la nivelul membranelor interne ale cloroplastului şi mitocondriei. Forţa motrice a protonilor poate fi de asemenea folosită pentru preluarea zaharozei, împotriva gradientului de concentraţie, de obicei pe calea unui simport H^+- zaharoză. Deci, zaharoza este supusă unui contransport cu un proton.

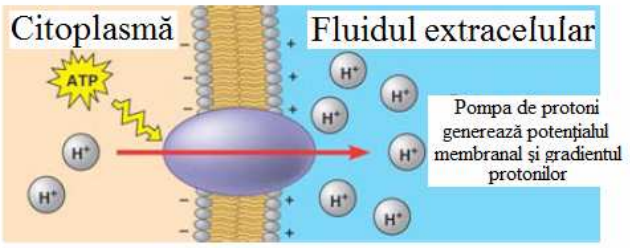


Fig.3.17. Acţiunea H-ATP azei la nivelul plasmalemei

Când sunt transportaţi protoni în afara celulei, electrogenic se creează un potenţial membranal, cât şi un gradient de pH. Acest gradient electrochimic al H^+ numit adesea forţa motrice a protonilor reprezintă de fapt o modalitate de depozitare a energiei libere, sub forma gradientului de H^+. Deşi bistraturile fosfolipidice pure sunt practic impermeabile pentru H^+, membranele celulei vegetale conţin proteine membranale specifice, care permit H^+ să difuzeze înapoi în celulă, dacă el se deplasează cu un alt ion sau substanţă. Într-o astfel de situaţie, forţa motrice generată de transportul electrogenic al protonilor este utilizată pentru dirijarea transportului multor altor substanţe, împotriva gradienţilor electrochimici, proces denumit ***cotransport***. În cazul unui cotransport realizat într-un singur sens, denumirea este de *simport*, iar dacă se realizează în direcţii opuse este denumit *antiport* (*fig. 3.18.*).

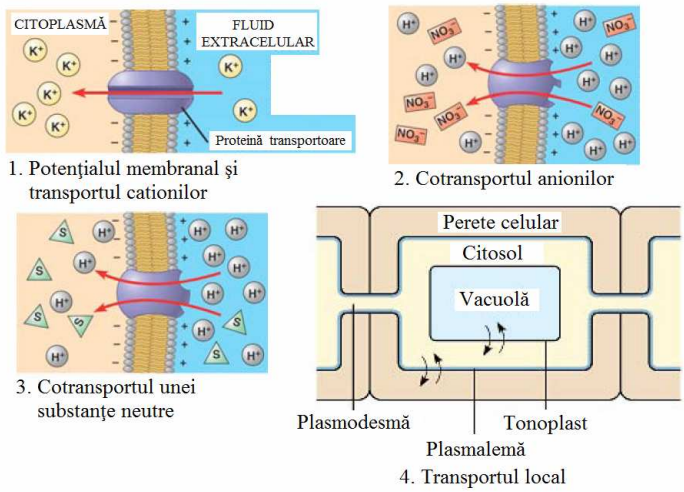


Fig.3.18. Pătrunderea substanţelor în celula vegetală şi transportul local

Prin urmare, vacuola este mai acidă (pH 3-6) comparativ cu citosolul (pH 7,5). La nivel de tonoplast V-ATPaza şi pirofosfataza pompează H^+ în interiorul vacuolei, împotriva gradientului de concentraţie Membrana vacuolară conţine de asemenea canale pentru Cl^- şi NO_3^-, canale care transportă aceşti anioni din citosol, către vacuolă. Intrarea acestor anioni împotriva gradienţilor lor de concentraţie este condusă de către potenţialul pozitiv din interior, potenţial generat de pompele de H^+. În consecinţă, prin activitatea celor două pompe de protoni, în legătură şi cu activitatea canalelor pentru anioni, se determină ca în interior să se dezvolte un potenţial electric pozitiv, de aproximativ 20 mV transversal tonoplastului şi totodată un marcant gradient de pH.

Un alt ion important transportat electrogenic este *calciul*, permiţându-se menţinerea la nivelul citosolului a unei concentraţii foarte mici de Ca^{2+}, comparativ cu peretele celular şi spaţiile apoplastului, care sunt bogate în Ca^{2+}.

La celula vegetală, diferitele proteine transportoare permit vacuolei să acumuleze metaboliţi şi ioni. Spre exemplu, în frunză, excesul de zaharoză generat pe parcursul fotosintezei în timpul zilei este depozitat în vacuolă. Pe parcursul nopţii, zaharoza este transportată în citoplasmă şi este metabolizată la CO_2 şi H_2O, cu generarea simultană de ATP, din ADP şi P_a. Pentru acumularea zaharozei în vacuolă intervine un transportor proton-zaharoză antiport, respectiv intrarea zaharozei se realizează odată cu ieşirea H^+. Procesul este favorizat de gradientul de concentraţie al acestuia (vacuolă > citosol) şi de potenţialul negativ trans-vacuolar. De asemenea, pătrunderea dinspre citosol, în vacuolă a Ca^{2+} şi Na^+ împotriva gradienţilor lor de concentraţie este mediată asemănător, de către co-transportori, antiport cu protoni (Lodish şi al., 2000).

Menţinerea homeostaziei pH-ului în sistemul de endomembrane necesită de asemenea activitatea pompelor de protoni. Cercetările efectuate au evidenţiat importanţa funcţiilor celor două pompe situate la nivel de tonoplast, în ceea ce priveşte traficul endocitic şi secretor (Schumacher, 2006).

Unele substanţe situate în membrane, precum lecitina, acizii graşi şi cardiolipina pot funcţiona ca **ionofori.** Cercetările efectuate de Tyson şi al. (1976) au demonstrat faptul că dintre fosfolipidele testate, cei mai activi ionofori s-au dovedit cardiolipina şi acidul fosfatidic. Ionoforii interacţionează cu cationii, formează complexe solubile în membrană şi astfel membrana poate fi traversată.

Pinocitoza reprezintă un mod specific de transport şi constă în formarea unor evaginaţii, care dau naştere veziculelor denumite pinocite. Compuşii chimici existenţi în vezicule sunt puşi în libertate, fie în interiorul celulelor (endopinocitoză) traversînd plasmalema, fie în spaţiul extracelular (exopincitoză) sau sunt transportaţi trans - tonoplast.

Importanţa transportului transmembranal

Transportul transmembranal joacă un rol central în fiziologia hormonilor, prin controlul asupra creşterii şi dezvoltării plantelor, începând de la evoluţia polarităţii într-o singură celulă, către complexitatea interacţiunilor celulare, care induc mişcările unui întreg organ al plantei (ex. tropisme). Multe dintre aceste procese sunt controlate osmotic la nivel celular şi din acest considerent sunt fondate pe necesitatea fluxului substanţelor anorganice, în stare dizolvată.

Canalele de anioni participă la realizarea a diferite funcţii fiziologice: osmoreglarea celulară, semnalizarea celulară, nutriția plantelor, compartimentalizarea metaboliților și toleranța la metale (Angeli și al., 2007).

De o importanţă egală, chiar dacă de o mai mică extindere, transportul membranal serveşte proceselor de translaţie şi în anumite cazuri, de asemenea se transmit semnale între celule, aşa încât este condusă informaţia în plantă.

Un exemplu edificator al controlului hormonal al canalelor de ioni este cel găsit în cazul acţiunii acidului abscisic (ABA) în celulele de gardă ale complexului stomatic, în frunzele plantelor superioare (Blatt, 1993) (vezi Cap. 4). De altfel, ABA induce o cascadă de evenimente mult mai complexă decât se pare la prima vedere. S-a determinat de asemenea că la nivelul plasmalemei celulelor de gardă a stomatelor, sunt două tipuri de canale pentru K^+, unul pentru pătrunderea potasiului (influx), canal care este inhibat de ABA (Schroeder şi al., 1987) şi un altul care activează ieşirea (efluxul) K^+.

În privinţa posibilităţilor de determinare a permeabilităţii membranelor pentru apă şi ioni minerali (ex. în cazul evaluării impactului unor factori asupra funcţionalităţii acestora) De Clerck şi Geuns (1988) au descris o metodă pentru măsurarea permeabilităţii pentru ^3H_2O, demonstrându-se spre exemplu că hormonii steroizi (cortizol) pot afecta în special permeabilitatea hipocotilului, inducând o creştere a permeabilităţii membranale (De Clerck şi Geuns, 1989). De asemenea, pe baza acestei metode, cât şi prin utilizarea metodei conductometrice (scurgerea electroliţilor -

electrolyte leakage) s-a determinat influenţa unor dereglări fiziologice la mere, asupra gradului de selectivitate a membranelor (Delian şi al., 1996).

De altfel, electrochimia este una dintre cele mai vechi ramuri ale chimiei fizice şi de fapt ale chimiei în general. Cu toate că primul mare electrochimist a fost italianul Luigi Galvani (1737 – 1798) care a făcut marea sa descoperire în anul 1791, a trecut suficient timp până la formarea celor două mari domenii ale electrochimiei (unul ocupându-se cu studiul conţinutului ionic al lichidelor, iar celălalt cu procesele care au loc la nivelul electrozilor). Mai târziu, sub influenţa studiilor aprofundate ale celulei vii, a luat naştere un nou subdomeniu – studiul membranelor – căruia Koryta (1992) i-a acordat un interes deosebit în lucrarea de sinteză „Ions, Electrodes and Membranes".

Primul avans major în domeniul transportului ionilor a fost dezvoltarea de către colectivele lui Heher şi Sakmann a tehnicii denumită *„patch clamp technique"*. Prin această tehnică, cercetătorii au fost capabili pentru prima oară să detecteze deschiderea şi închiderea unui singur canal ionic din membranele celulare şi să controleze riguros gradientul potenţialului chimic pentru ionul de interes. Al doilea succes a fost evoluţia tehnicilor moleculare de identificare a genelor şi proteinelor codificate (Assmann, 2001).

Modificările privind permeabilitatea membranelor, respectiv studiile în legătură cu stabilitatea acestora, în condiţiile incidenţei unor factori de stres biotici sau/şi abiotici, cât şi găsirea celor mai potrivite ţesuturi pentru astfel de determinări, pot constitui mijloace de caracterizare a toleranţei plantelor la acţiunea factorilor nefavorabili, pentru noile creaţii ale amelioratorilor.

3.3. Schimburile de gaze dintre celula vegetală şi mediu

Absorbţia dioxidului de carbon şi eliberarea de oxigen la nivelul celulelor mezofilului frunzei nu reprezintă singurul schimb de gaze specific plantelor verzi. Pentru celula vegetală nu este necesar doar CO_2, ci în cursul procesului de biodegradare a compuşilor organici, pe parcursul respiraţiei este absolut necesar O_2. Prin urmare, în cazul unei plante verzi expuse la lumină, în frunzele acesteia se desfăşoară schimbul de gaze specific fotosintezei. Totodată, în toate celulele vii, în cadrul tuturor ţesuturilor se desfăşoară schimbul de gaze specific respiraţiei (*fig.3.19.*).

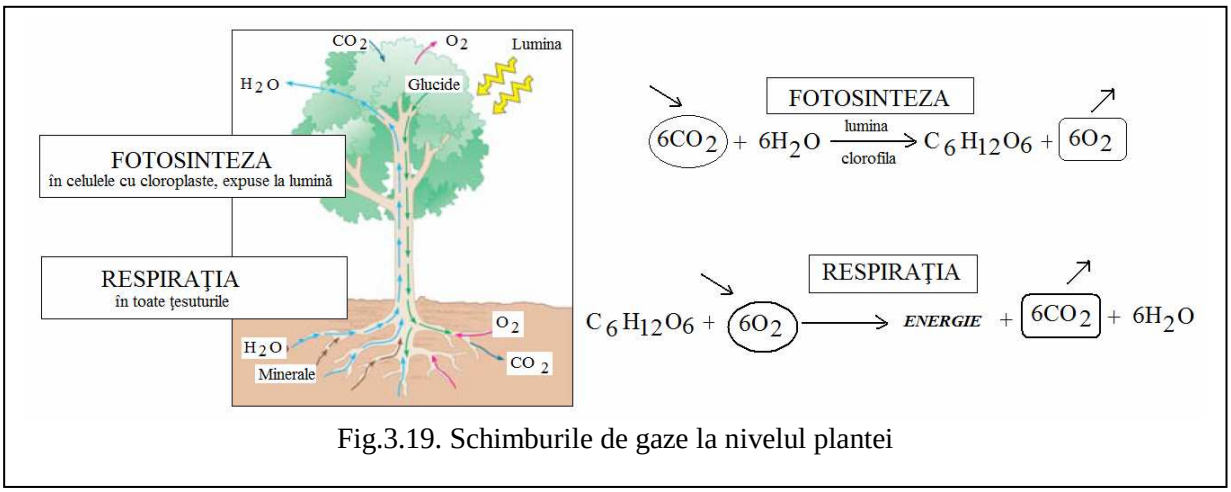


Fig.3.19. Schimburile de gaze la nivelul plantei

Schimbul de gaze dintre celula vegetală şi mediu se realizează prin procesul de difuziune, traversându-se plasmalema, dar, mai întâi, gazele trebuie să se dizolve apă.

Pentru plantele terestre, necesitatea conservării apei se află în conflict cu schimburile de gaze. Trebuie realizat un echilibru între ceea ce înseamnă pierderea apei cauzată de energia calorică provenită de la soare şi de vânt, cu necesitatea absorbţiei CO_2 şi a O_2, pentru realizarea fotosintezei şi respiraţiei. În vederea rezolvării acestor probleme, cele mai multe plante terestre şi-au dezvoltat mecanisme specifice de compromis (vezi Cap. 4).

Trebuie menţionat de asemenea faptul că în cazul plantelor, schimburile de gaze sunt realizate la nivel local. Fiecare celulă vie schimbă gaze în mod direct cu mediul. Nu există un sistem specializat pentru schimbul de gaze, precum în cazul celulei animale şi nici un sistem

specializat pentru transportul acestora. La nivelul plantei există spaţii intercelulare interconectate, pline cu aer, care formează apoplastul intercelular. Acesta este un sistem deschis mediului extern, prin intermediul stomatelor şi lenticelelor. De asemenea, acesta penetrează până la cele mai profunde celule ale plantelor. Astfel, gazele din mediu pot să se deplaseze prin apoplast în mod direct, către zonele interne ale plantei, fără a fi nevoie de traversarea membranelor. Deoarece O_2 difuzează prin aer de 10.000 de ori mai repede decât prin lichide, sistemul de spaţii intercelulare pline cu aer asigură ca toate celulele, chiar şi cele mai profunde să fie aprovizionate în mod corespunzător.

În ţesuturile plantelor, pe lângă CO_2 şi O_2 sunt transportate şi alte gaze, precum etilena şi alţi compuşi ai metabolismului intermediar.

Întrebări

1. Enumeraţi şi explicaţi principalele procese care guvernează relaţia celulei vegetale cu apa.
2. Turgescenţa: definiţie, condiţiile de realizare şi importanţă fiziologică.
3. Plasmoliza: definiţie, condiţiile de realizare şi importanţă fiziologică.
4. Explicaţi graficul lui Höfler.
5. Explicaţi transportul pasiv al substanţelor prin membranele biologice.
6. Explicaţi transportul activ al substanţelor prin membranele biologice.
7. Explicaţi schimburile de gaze dintre celula vegetală şi mediu.

Bibliografie selectivă

Angeli, A., Thomine, S., Franchisse, J.M., Ephritikhine, G., Gambale, F. şi Barbier-Brygoom, H. 2007. Anion channels and transporters in plant cell membranes. Plant Transporters and Channels, Vol. 581: 2367-2374.

Assmann, M.S. 2001. From proton pomp to proteome. Twenty five years of research on ion transport in higher plant. Plant Physiology, Vol. 125: 139 – 141.

Buer, C.S., Weathers, P.J. şi Swartzlander, Jr. 2000. Changes in Hechtian strands in cold-hardened cells measured by optical microsurgery. Plant Physiology, Vol. 122: 1365-1377.

Cavez, D., Hachez, C., Chaumont, F. 2009. Maize sweet suspension cultured cells are a convenient tool for studying aquaporin activity and regulation. Plant Signaling and Behavior, Vol.4: 9, 880-892.

Chrispeels, M. şi al. 1999. Proteins for transport of water and mineral nutrients acroos membranes of plant cells. The Plant Cells, Vol. 11: 661- 675.

Hill, A.E., Shachar-Hill, B. and Shachar-Hill, Y. 2004. What are aquaporine for ? Journal Membrane Biology, Vol. 197: 1-32.

Pritchard, J. 2001. Turgor Pressure. Encyclopedia of Life Sciences, Nature Publishing Group.

Silva, P., Façanha, A.R., Tavares, R.m., Gerós, H. 2010. Role of tonoplast proton pumps and Na^+/H^+ antiport system in salt tolerance of *Populus euphratica* Oliv. Journal of Plant Growth Regulators, Vol. 29: 23-24.

Kaldenhoff, R., Bertl, A., Otto, B., Moshelion, M. şi Uehleim, N. 2007.Characterization of plant aquaporins. Methods in enzymoloy, Vol. 48: 505- 531.

Taiz, L. and Ziger, E. 2002. Plant Physiology. 3rd Ed. Sinauer Associates: Sunderland, Massachusetts.

Taiz, L. and Ziger, E. 2006. Plant Physiology. 4rd Ed. Sinauer Associates.

Tyson, C.A., Zande, H.V., Green, D.E. 1976. Phospholipids as ionophors. The Journal of Biological Chemistry, Vol. 252: 1326-1332.

Vandelur, R. 2007. Grapevine root hydraulics: The role of aquaporins. Teză de doctorat.

CAPITOLUL 4

REGIMUL DE APĂ AL PLANTELOR

Cuvinte cheie: *regim de apă, plante higrofile, plante mezofile, plante xerofile, apă liberă, apă legată, absorbţie radiculară, absorbţie extra-radiculară, transport extra-fascicular, transport fascicular, transpiraţie, gutaţie, stomate, hidatode, bilanţ hidric*

Obiective:
● definirea regimului de apă al plantelor;
● prezentarea categoriilor de plante în funcţie de relaţia lor cu umiditatea solului;
● prezentarea conţinutului de apă al plantelor, a stărilor şi formelor de apă din plante;
● descrierea rolului apei în viaţa plantei, în relaţie cu particularităţile structurale şi proprietăţile fizico-chimice ale acesteia;
● descrierea căilor de absorbţie a apei, a mecanismelor implicate şi a modului în care factorii interni şi externi influenţează absorbţia; consideraţii practice;
● descrierea căilor de transport a apei, a mecanismelor implicate şi a modului în care factorii interni şi externi influenţează acest proces; consideraţii practice;
● descrierea căilor de eliminare a apei din plante, a mecanismelor implicate şi a modului în care factorii interni şi externi influenţează acest proces; consideraţii practice;
● descrierea indicatorilor fiziologici privind transpiraţia;

REZUMAT

Regimul de apă al plantelor reprezintă ansamblul proceselor de absorbţie a apei din mediu, circulaţia sau transportul ei în plante şi eliminarea acesteia în atmosferă. În funcţie de relaţia lor cu umiditatea solului, plantele terestre sunt grupate de obicei în trei categorii: plante higrofile, plante mezofile şi plante xerofile. Apa reprezintă circa 80-95% din masa ţesuturilor vegetale proaspete. Conţinutul de apă variază cu specia de plantă, vârsta plantei, organul şi ţesutul. Principalele stări ale apei în plante sunt starea lichidă şi starea gazoasă. La rândul său, apa lichidă se poate găsi sub două forme: apă liberă şi apă legată. Printre funcţiile fiziologice ale apei se pot enumera următoarele: este un foarte bun solvent, este un factor termoreglator, asigură transportul continuu al substanţelor în plante pe distanţe mari, contribuie la realizarea stării de turgescenţă, are rol în realizarea extensiei celulare, constituie materie primă în procesul de fotosinteză, determină repartizarea vegetaţiei pe globul terestru etc. Absorbţia apei se realizează pe două căi: radicular şi prin organele aeriene (extra-radicular). Rădăcina este organul specializat pentru absorbţie, datorită particularităţilor sale morfologice, anatomice şi fiziologice. Înţelegerea mecanismului de absorbţie, precum şi a influenţei factorilor interni şi externi asupra acestui proces prezintă o deosebită importanţă practică. Transportul apei în plante se realizează pe două căi: extra-fascicular (pe distanţe mici) şi fascicular (pe distanţe mari). Transportul extra-fascicular este realizat în celula însăşi, precum şi pe distanţe mici, de la celulă la celulă. Transportul fascicular se realizează printr-un sistem specializat de transport, pe distanţe mari, respectiv prin xilem în cazul sevei brute şi prin floem în cazul sevei elaborate. Eliminarea apei din plante se realizează pe două căi: prin transpiraţie şi prin gutaţie. Transpiraţia reprezintă procesul de eliminare a apei din plante sub formă de vapori, la nivelul ostiolelor stomatelor, porilor cuticulei şi lenticelelor. Gutaţia reprezintă procesul de eliminare a apei din plante sub formă de picături, la nivelul unor formaţiuni specializate denumite hidatode, în condiţiile în care bilanţul hidric (Absorbţie/Transpiraţie) are valori supraunitare. Principalii indicatori fiziologici privind transpiraţia sunt: rata transpiraţiei, coeficientul de transpiraţie, productivitatea transpiraţiei, eficienţa folosirii apei şi bilanţul hidric.

Regimul de apă al plantelor *reprezintă ansamblul proceselor de absorbţie a apei din mediu, circulaţia sau transportul ei în plante şi eliminarea acesteia în atmosferă.*

Circuitul apei în sistemul sol – plantă - atmosferă reprezintă o condiţie esenţială pentru existenţa plantelor.

4.1. Clasificarea plantelor în funcţie de relaţia lor cu umiditatea solului

Ca factor de mediu, apa are un rol ecologic deosebit şi contribuie la repartizarea plantelor pe diferite zone geografice. Astfel, în raport cu relaţia lor cu umiditatea solului, plantele terestre sunt grupate în **trei categorii**:

1. ► *plante higrofile*: preferă solurile umede, inundate şi prezintă anumite adaptări specifice, pentru eliberarea uşoară a apei absorbite (număr relativ mare de stomate etc.);
2. ► *plante mezofile*: trăiesc pe soluri cu grad mediu de umiditate (majoritatea plantelor cultivate) şi nu posedă adaptări specifice, precum higrofitele sau xerofitele;
3. ► *plante xerofile*: trăiesc în locuri cu umiditate insuficientă (zone aride) sau în locuri cu concentraţii mari de săruri şi au adaptări speciale pentru controlul procesului de eliminare a apei (stomate dispuse în cratere, număr mai mic de stomate pe unitatea de suprafaţă foliară etc.).

4.2. Conţinutul de apă al plantelor, stările şi formele apei în plante

Apa *reprezintă un component comun, anorganic, în toate organismele vegetale şi animale, fiind necesară efectuării reacţiilor metabolice.* În celulele vegetale în stare de viaţă activă, conţinutul în apă este mare (80-95% din masa ţesuturilor vegetale proaspete*)* şi el variază în funcţie de numeroşi factori interni şi externi (Dorobanţu şi Molea, 1985).

Astfel, **conţinutul** în apă *variază cu specia* de plantă, *vârsta plantei*, cu *organul* şi cu *ţesutul*. Spre exemplu: fructele de tomate şi castraveţi conţin în jur de 95 % apă. Ţesuturile meristematice şi vasele lemnoase conţin o cantitate mai mare de apă, comparativ cu ţesuturile mecanice de susţinere. Conţinutul cel mai mic de apă îl au seminţele aflate în perioada de dormanţă (5-15%).

În cazul plantelor superioare, apa se află în general sub două ***stări***: *lichidă* şi *gazoasă.* În timpul iernii, la temperaturi negative apa se poate găsi şi în stare solidă, sub formă de gheaţă, mai ales la nivelul spaţiilor intercelulare. Apa lichidă se află în toate organele plantei, iar la nivel celular se regăsește în pereţii celulari, în citosol, în vacuolă etc. În stare gazoasă, apa se află în spaţiile intercelulare şi în toate spaţiile aerifere ale ţesuturilor.

Apa lichidă ocupă ponderea şi se găsește sub două ***forme***: *apă liberă* şi *apă legată*. Apa liberă este localizată în porii pereţilor celulari, în vacuole, în citoplasmă şi în vasele conducătoare. Este reţinută cu forţe slabe, circulă foarte uşor, asigură turgescenţa celulelor şi reprezintă sediul de desfăşurare a reacţiilor metabolice. Apa legată este reţinută cu forţe mari de către coloizii hidrofili ai citoplasmei şi este pierdută greu. Ea nu circulă în plantă, nu participă la realizarea proceselor biochimice şi nici la dizolvarea substanţelor anorganice şi organice. În condiţii nefavorabile, cantitatea de apă liberă scade şi aceasta asigură o mai bună rezistenţă a plantelor la îngheţ.

4.3. Rolul apei în viaţa plantei

Apa îndeplinește numeroase funcţii în plante, *datorită particularităţilor structurale, precum şi proprietăţilor sale fizice şi chimice***.**

1● Moleculele de apă (alcătuite dintr-un atom de oxigen, legat covalent de doi atomi de hidrogen) sunt molecule mici, polare. În consecinţă, apa constituie un *foarte bun solvent,* pentru numeroase şi variate substanţe (*fig. 4.1.*). Apa previne agregarea proteinelor şi cristalizarea ionilor.

2● Ca urmare a numeroaselor legături de hidrogen dintre moleculele apei, aceasta se caracterizează prin:

▪ *valoare mare a căldurii specifice;*

▪ *valoare mare a căldurii latente de vaporizare*.

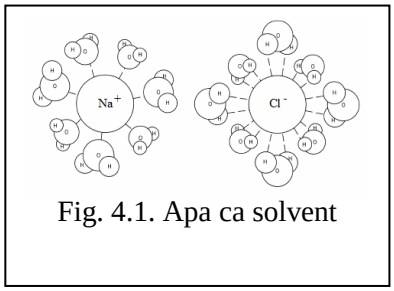


Fig. 4.1. Apa ca solvent

Căldura specifică reprezintă energia necesară pentru ridicarea temperaturii unui gram de apă, cu 1^0C. În cazul apei, este necesară o cantitate mai mare de energie, comparativ cu necesarul în cazul altor lichide. Pentru apă, căldura specifică este de 1,00 cal/g/^{o}C > alcool (0,58) > aer (0,25) > cupru (0,09).

Căldura latentă de vaporizare reprezintă energia necesară pentru separarea moleculelor apei din faza lichidă şi trecerea lor în faza gazoasă, la o temperatură constantă. Aceasta se întâmplă timpul transpiraţiei. Pentru apă, la 25^{o}C, aceasta are valoarea de 10,5 KJ mol^{-1} (cea mai mare valoare cunoscută pentru orice lichid; 1 kJ = 0,24 Kcal.). Deci, transpiraţia facilitează răcirea. Energia termică este folosită pentru vaporizarea apei, deci apa este un *factor termoreglator*.

3● Ca urmare a manifestărilor proprietăţilor de *coeziune*, *adeziune* şi *tensiune superficială* (*fig. 4.2.*), (*fig. 4.3.*) ia naştere <u>fenomenul de capilaritate.</u> Aceasta contribuie la circulaţia apei în plantă, în şir continuu, în xilem şi transportul simultan al substanţelor. Tensiunea superficială a apei tinde să minimizeze suprafaţa interfeţei apă-aer.

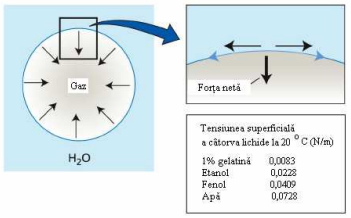


Fig. 4.2. O bulă de gaz suspendată într-un lichid capătă o formă sferică

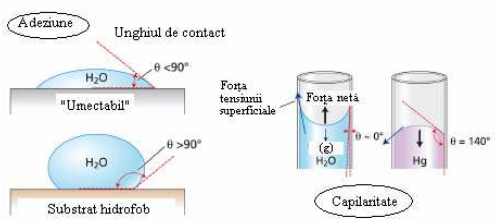


Fig. 4.3. Forma unei picături de apă pe o suprafaţă solidă

4● Apa se caracterizează printr-o mare *forţă* (putere) *de extensibilitate*, respectiv forţa maximă de suprafaţă prin care o coloană continuă de apă poate rezista înainte de a fi întreruptă (*fig. 4.4.*). Apa poate rezista la 30 MPa (10% din forţa de extensibilitate a cuprului).

5●Apa *contribuie la realizarea stării de turgescenţă* a celulelor şi în consecinţă asigură desfăşurarea în condiţii optime a tuturor proceselor metabolice. Apa reprezintă mediul de dispersie pentru substanţe anorganice şi organice şi totodată mediu de reacţie. De asemenea, apa prezintă importanţă fiziologică pentru realizarea unor mişcări (deschiderea şi închiderea ostiolelor stomatelor, mişcări ale organelor plantelor etc.).

6● Dintre procesele fiziologice, creşterea (respectiv *extensia celulară*) este cel mai mult afectată în lipsa apei. Apa reprezintă *materie primă în procesul de fotosinteză* (donator de protoni, electroni, cât şi sursă de oxigen) (vezi Cap.6).

7● Din punct de vedere ecologic, pe lângă alţi factori (lumină, temperatură etc.) apa *determină repartizarea vegetaţiei pe globul terestru*.

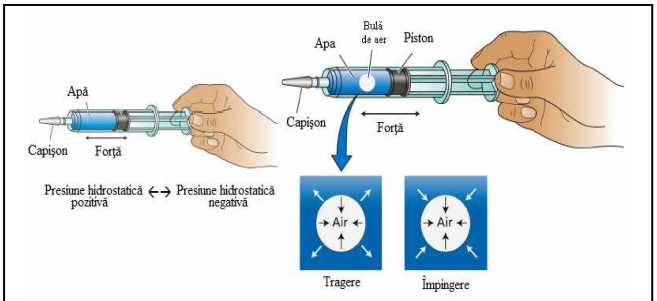


Fig. 4.4. Puterea mare de extensibilitate a apei

4.4. Absorbţia apei de către plante

4.4.1. Căile şi mecanismul de absorbţie a apei de către plante

Apa este absorbită de către plante pe **două căi**:

I. ► *prin rădăcină* (radicular)

II. ► *prin organele aeriene* (extra-radicular)

Rădăcina este organul specializat pentru absorbţia apei şi a substanţelor minerale. Într-o proporţie mai mică, absorbţia are loc şi prin organele aeriene, în special prin frunze.

4.4.1.1. Absorbţia apei prin rădăcină şi transportul extra-fascicular către xilem

a) Particularităţi morfologice, anatomice şi fiziologice ale rădăcinii

Faptul **că rădăcina este organ specializat pentru absorbţia apei** este dovedit prin aceea că la germinarea seminţelor, rădăcina este primul organ care apare. Plantulele au nevoie de apă, având în vedere faptul că în endosperm dispun de substanţe organice de rezervă şi săruri minerale. Pentru a face faţă cu succes acestei funcţii, plantele şi-au dezvoltat un sistem radicular puternic. Suprafaţa de contact cu soluţia solului este mărită, prin prezenţa şi formarea *perişorilor absorbanţi*.

În partea apicală se află zona de creştere, iar rădăcina are o creştere continuă. Aceasta îi permite explorarea solului şi găsirea celor mai bune zone în privinţa prezenţei apei şi substanţelor minerale. Vârful rădăcinii este acoperit de piloriză (caliptră), care asigură protecţie în timpul penetrării printre particulele solului. Zona specializată pentru absorbţie este zona perişorilor absorbanţi (*fig. 4.5.*).

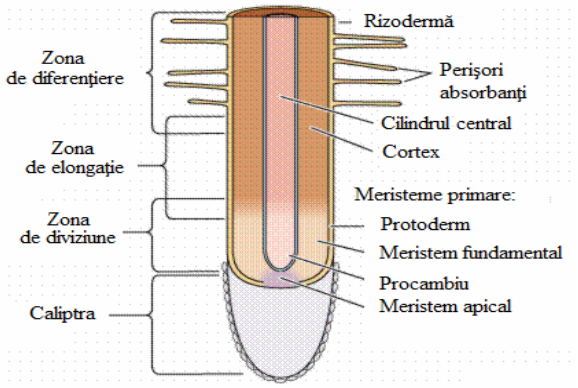


Fig. 4.5. Zonele rădăcinii şi particularităţi structurale

Perişorii absorbanţi sunt celule rizodermice modificate:

▪ celule alungite;

▪ nucleul este situat către vârful celulei;

▪ au o vacuolă mare;

▪ pereţii celulari sunt bogaţi în caloză (un β – glucan, care măreşte permeabilitatea pentru apă);

▪ au o viaţă scurtă, în general 7-10 zile;

▪ numărul lor variază cu specia: la plante lemnoase, precum *Pinus sylvestris* 217 peri / mm^2; la plante ierboase, precum *Secale cereale* 2500 peri / mm^2.

Partea bazală a rădăcinii denumită şi zona aspră prezintă cicatrice, rezultate din moartea perişorilor absorbanţi. La nivelul acestei zone, absorbţia este redusă, din cauza suberificării şi lignificării rizodermei.

b) Mecanismul absorbţiei apei şi transportului extra-fascicular către xilem

Pătrunderea apei în perişorii absorbanţi, precum şi transportul acesteia prin rădăcină este un proces complex, având în vedere particularităţile anatomice ale rădăcinii. Stendle şi Paterson (1998) au descris procesul ca un **″model compozit de transport″**, care permite diferenţieri în privinţa deplasării apei prin celulele individuale, precum şi prin diferitele tipuri de ţesuturi.

Deplasarea apei din soluţia solului, către xilemul rădăcinii şi apoi în toată partea supraterană poate fi tratată ca un curent de fluid, printr-o structură complexă, cu rezistenţe hidraulice diferite,

unele dispuse în serie (cum sunt diferitele ţesuturi din cilindrul central) şi altele dispuse paralel (cum sunt diferitele căi celulare pentru transportul apei).

Zona specializată pentru absorbţia apei este **zona perişorilor absorbanţi.**

Apa din soluţia solului străbate pereţii celulari ai perişorilor absorbanţi prin difuziune. Apa pătrunde în celule conform osmozei, dacă potenţialul apei din soluţia solului este mai mare, decât potenţialul apei sucului celular. Ajunsă însă în pereţii celulari, apa poate continua să circule prin difuziune, de la o celulă la alta, până la nivelul endodermului. Această cale de transport a apei, prin pereţii celulari şi spaţiile intercelulare dintr-un ţesut reprezintă **calea prin apoplast.** Dacă apa traversează plasmalema şi pătrunde în celulă, asemănător continuităţii pereţilor celulari şi între citoplasma celulelor vecine există continuitate, prin intermediul plasmodesmelor. Această cale de transport prin plasmodesme, pe baza difuziunii este denumită **cale celulară prin simplast**. Dacă apa traversează cel puţin două membrane într-o celulă, pe parcursul transportului său (respectiv dacă apa traversează şi tonoplastul) calea se denumeşte **calea celulară transmembranară** (*fig.4.6.; fig.4.7.*).

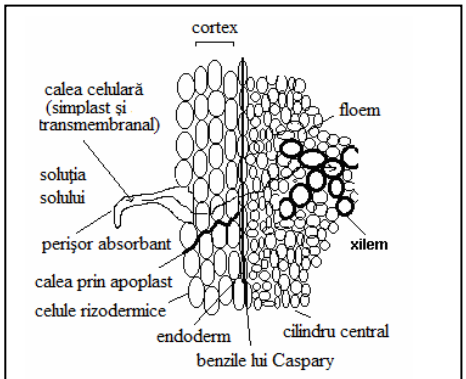


Fig. 4.6 Căile de transport extrafascicular prin rădăcină

Prin apoplast, soluţia circulă cu o viteză de 10 ori mai mare, decât prin simplast. La nivelul endodermului însă, calea prin apoplast este blocată, din cauza impregnării pereţilor celulari cu suberină (substanţă hidrofobă) şi formarea benzilor lui Caspary. În consecinţă, atât apa cât şi substanţele dizolvate vor traversa plasmalema şi vor pătrunde în citoplasma celulelor endodermului, pentru a se deplasa prin simplast, către celulele pericicluului.

De menţionat faptul că, *până la nivelul endodermului*, pompele de ioni de la nivelul plasmalemei acţionează în sensul – perete celular, către citoplasmă, ceea ce conduce la generarea potenţialului osmotic celular, determină endosmoza apei şi realizarea unui curent de apă, către endoderm. *După endoderm*, pompele din plasmalemă acţionează în sensul – citoplasmă, către peretele celular şi în consecinţă se determină exosmoza apei.

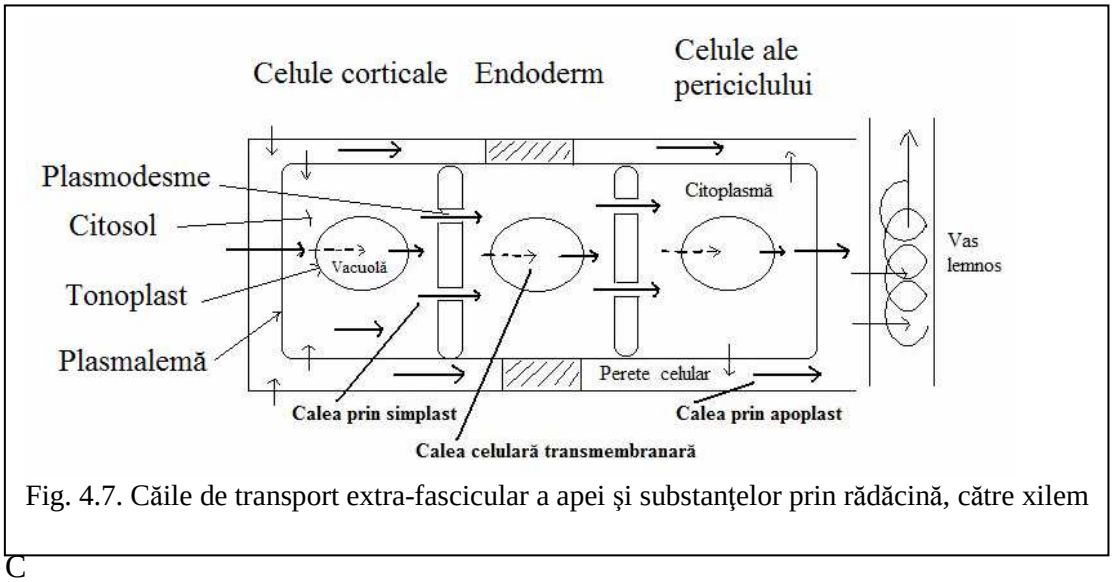


Fig. 4.7. Căile de transport extra-fascicular a apei şi substanţelor prin rădăcină, către xilem

C

Creşterea volumului soluţiei din apoplast generează o presiune, denumită **presiune radiculară**, care determină pătrunderea apei în vasul lemnos şi ascensiunea sevei brute. La un moment dat, seva poate "curge" la exterior prin secţiunile ramurilor, iar procesul este denumit

"*plânsul plantelor"*. Presiunea radiculară este o presiune activă, pentru că se consumă energie metabolică pentru generarea ei şi pozitivă, deoarece ea împinge în sens ascendent. Prezenţa benzilor lui Caspary la nivelul endodermului constituie o adaptare, care permite realizarea presiunii radiculare.

Prin urmare, rădăcina acţionează ca o pompă aspiro – respingătoare, sau ca un sistem de două pompe cu sens contrar. Transportul transversal prin rădăcină este deci un proces complex. Într-un mod simplificat, această cale multicelulară (de la perişorii absorbanţi până la xilem) ar putea fi considerată ca o singură membrană selectiv permeabilă. Conductivitatea hidraulică a rădăcinilor se află în directă interdependenţă cu intensitatea respiraţiei şi scade odată cu descreşterea ratei acestui proces.

4.4.1.2. Absorbţia apei prin organele aeriene

Plantele pot absorbi apă şi substanţe nu doar prin intermediul sistemului radicular, ci şi prin organele aeriene, deci extra-radicular. Dintre organele aeriene, absorbţia *cu cea mai mare intensitate are loc la nivelul frunzelor*, datorită particularităţilor lor anatomice.

Pe această cale, plantele pot valorifica o parte din apa din precipitaţii, apa sub formă de rouă, cu precădere în cazul plantelor ierboase de talie mică. Desigur, cantitatea de apă absorbită în mod natural prin frunze este relativ scăzută, faţă de necesităţile plantelor, reprezentând circa 8-10% din cantitatea necesară. De asemenea, există variaţii în funcţie de specia de plantă, vârsta plantei, natura cuticulei etc. Absorbția foliară prezintă importanţă inclusiv la plantele lemnoase, aşa cum s-a demonstrat recent şi la *Pinus strobus* (Boucher şi al., 2009). Rezultatele obţinute de Limm şi al. (2009) reliefează faptul că absorbţia foliară asigură în mod direct hidratarea frunzelor, sporind conţinutul de apă al acestora cu 2-11 %.

În ceea ce priveşte *mecanismul absorbţiei* prin frunze, procesul se realizează prin intermediul porilor cuticulari şi prin ectodesme. Dacă există conexiuni între porii cuticulari şi ectodesme, se formează adevărate canale. Procesele care stau la baza acestui transport sunt difuziunea sau curentul de masă. Pătrunderea în celule se realizează conform mecanismelor prezentate deja in Cap. 3.

Frunzele cu cuticula subţire (fasole) absorb mai mult decât frunzele unor plante lemnoase (tei, stejar). În cazul frunzele tinere, absorbţia este mai rapidă şi se asigură chiar până la 50% din necesarul de apă. Procesul este mai intens la nivelul feţei inferioare a limbului frunzei, în zona din vecinătatea nervurilor. La acest nivel cuticula este mai subţire şi în consecinţă, mai permeabilă pentru apă.

Intervin de asemenea numeroşi alţi factori, precum: compoziţia cerurilor, conţinutul în apă al frunzelor, temperatura mediului ambiant, viteza vântului etc. Spre exemplu, la frunzele ofilite (cu un deficit de saturare de 15%), forţa de "sugere" a celulelor este mai mare, decât la frunzele ale căror celule sunt turgescente.

Importanţa practică a absorbţiei extra-radiculare:

● în cazul stresului hidric sever, a deficitului de apă în sol, absorbţia apei de rouă, din precipitaţii sau irigarea prin aspersiune permite corectarea rapidă a stării de aprovizionare cu apă a plantelor;

● prin stropirea zilnică cu apă a frunzelor, de mai multe ori, comparativ cu cele nestropite, plantele dau un spor apreciabil de masă; frunzele sunt mai mari şi mai multe;

● absorbţia apei prin frunze stă la baza fertilizării extra-radiculare (stropirea plantelor cu soluţii apoase, mai ales pentru asigurarea cu microelemente), ceea ce permite corectarea rapidă a unor carenţe nutriționale;

● aplicarea tratamentelor cu produse fitofarmaceutice împotriva unor agenţi patogeni se bazează pe absorbţia foliară şi apoi efectul sistemic al acestora în plantă etc.

4.4.2. Factorii care influenţează absorbţia apei de către plante

Procesul de absorbţie a apei şi a substanţelor minerale de către plante este influenţat de numeroşi factori interni şi externi (Scherer şi al., 1996).

Dintre principalii ***factori interni*** amintim: specia, vârsta plantei, rata respiraţiei la nivelul celulelor rădăcinii, intensitatea procesului de transpiraţie, rata fotosintezei, dezvoltarea sistemului radicular, a perişorilor radiculari şi a potenţialului lor osmotic etc.

1) Specia influenţează procesul de absorbţie prin adaptările anatomice şi morfologice, în legătură cu specializarea pentru anumite condiţii de mediu. Spre exemplu, plantele xerofile au un sistem radicular ramificat, cu un potenţial osmotic ridicat, cu adaptări care permit micşorarea pierderilor de apă din ţesuturi (ex. stomate situate în cripte).

În raport cu specia, diferă şi numărul perişorilor absorbanţi. La plantele lemnoase există un număr mic de perişori absorbanţi (217 peri / mm^2 la *Pinus sylvestris*), în timp ce la plantele ierboase numărul acestora este foarte mare. La *Secale cereale* s-au numărat 14 miliarde de perişori absorbanţi, lungimea totală a acestora fiind de peste 600 km, iar suprafaţa lor în jur de 400 m^2.

2) Vârsta plantei

Necesarul de apă al plantelor variază în funcţie de fenofază, fiind mai mare în perioada de creştere, de înspicare – înflorire, de formare şi creştere a seminţelor şi fructelor (*fig. 4*.8.).

3) Rata respiraţiei influenţează indirect absorbţia apei, prin aceea că asigură energia biochimică necesară transportului ionilor în celule. Se generează astfel potențialul osmotic celular şi se induce endosmoza.

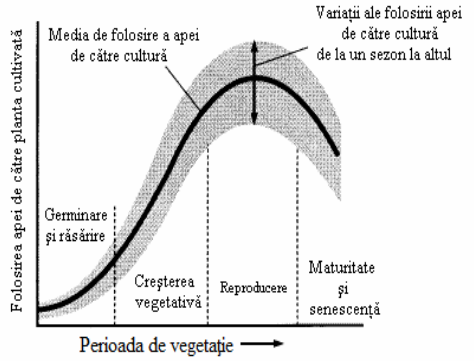

Media de folosire a apei de către cultură
Variaţii ale folosirii apei de către cultură de la un sezon la altul
Folosirea apei de către planta cultivată
Germinare şi răsărire
Creşterea vegetativă
Reproducere
Maturitate şi senescenţă
Perioada de vegetaţie

Fig. 4.8. Curba tipică de folosire a apei, pentru cele mai multe plante de cultură

4) Intensitatea procesului de transpiraţie influenţează prin aceea că transpiraţia intensă generează un deficit de apă la nivelul celulelor frunzelor. Prin urmare, creşte forţa de aspiraţie a frunzelor, principala forţă care determină ascensiunea sevei brute prin vasele lemnoase şi care totodată favorizează absorbţia radiculară.

5) Rata fotosintezei influenţează de asemenea în mod indirect absorbţia prin rădăcină, prin asigurarea unei cantităţi sporite de substrat respirator. Acesta, în urma respiraţiei furnizează energie pentru transportul activ al substanţelor minerale, pentru generarea potenţialului osmotic şi deci pentru realizarea endosmozei.

Factorii externi sunt reprezentaţi de : umiditatea solului (mai precis disponibilitatea apei din sol), concentraţia soluţiei solului, temperatura şi aeraţia solului, lumina etc.

1) Umiditatea solului (Disponibilitatea apei din sol)

La nivelul solului sunt diferite **forme de apă**:

▪ - *apa care se scurge orizontal la suprafață* (mare parte a apei din precipitații, după saturarea suprafeței solului) nedisponibilă plantelor;

▪ - *apa gravitațională*, care se deplasează vertical sub acțiunea forței de gravitație și care doar temporar poate fi absorbită de către plante;

▪ - *apa capilară* (apa care rămâne după scurgerea la suprafață și deplasarea gravitațională), dispusă ca un film subțire între spațiile ne-coloidale ale particulelor de sol și menținută sub acțiunea tensiunii superficiale;

▪ - *apa de higroscopicitate sau de imbibiție* (cea menținută de către particulele coloidale ale solului grație forțelor de adsorbție existențe între aceste particule și moleculele apei) care nu este disponibilă plantelor;

▪ - *apa combinată chimic* (eliberată doar prin menținerea solului la 105^0C), care nu este disponibilă pentru absorbție.

Apa gravitaţională circulă uşor descendent în sol, sub acţiunea forţei de gravitaţie.

Apa capilară este cea mai importantă pentru plante, deoarece ea este menţinută de către particulele de sol împotriva forţei de gravitaţie (*fig. 4*.9.) şi ***reprezintă forma disponibilă plantelor***.

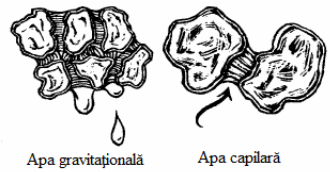


Fig. 4.9. Căi primare de menţinere a apei în sol pentru uzul plantelor

Disponibilitatea apei din sol este evaluată prin intermediul a *4 nivele importante ale* **conţinutului de apă a solului**: 1) *saturaţie*; 2) *capacitate de câmp*; 3) *punctul de ofilire*; 4) *uscat la etuvă*.

Când solul este saturat, porii solului sunt plini cu apă şi aproape toate spaţiile de aer din sol sunt înlocuite cu apă. Apa menţinută în sol între saturaţie şi capacitatea de câmp este apa gravitaţională. Frecvent, pentru apa gravitaţională trec câteva zile până se scurge prin profilul solului şi o parte poate fi absorbită de rădăcinile plantelor. *Capacitatea de câmp* se defineşte ca fiind cantitatea de apă reţinută în sol, după drenajul apei gravitaţionale, în urma ploilor sau a irigării. ***Apa menţinută în sol, între capacitatea de câmp şi punctul de ofilire*** este disponibilă pentru uzul plantelor (*fig. 4.10.*) şi de denumeşte **rezerva de apă utilă**.

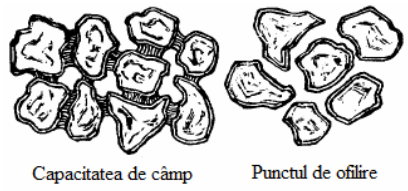


Fig. 4.10. Umiditatea solului disponibilă plantelor (între capacitatea de câmp şi punctul de ofilire)

Absorbţia decurge intens la o umiditate de 75-80 % din capacitatea totală pentru apă a solului. La o umiditate de peste 80 % din capacitatea totală pentru apă a solului, se determină reducerea ritmului absorbţiei, ca urmare a închiderii hidropasive a stomatelor.

Punctul de ofilire reprezintă acel conţinut (% de apă) de apă din sol, când cele mai multe plante nu pot exercita o forţă suficientă pentru a „scoate” apa din porii mici ai solului. Numeroase plante ajung la ofilirea permanentă, iar reducerea producţiei poate avea loc cu mult înainte de atingerea acestui moment. Dacă umiditatea solului ajunge la o valoare egală cu cea a coeficientului de ofilire, absorbţia încetează. În această privinţă, valorile diferă cu tipul de sol (ex. la solurile nisipoase 1,02; 1,11; la solurile luto-nisipoase 6,5 – 6,9; la solurile luto-argiloase 15,3 – 16,6). Pentru argilă, valorile specifice ale capacităţii de câmp şi coeficientului de ofilire sunt mai mari decât pentru nisip.

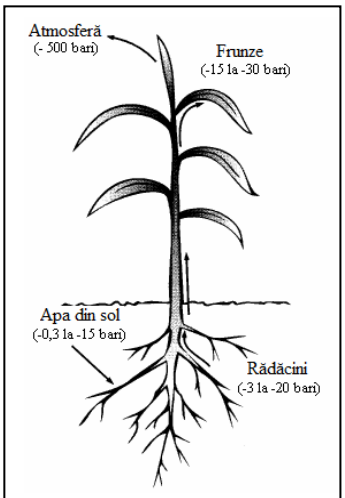


Fig. 4.11. Ilustrarea energiei diferenţiate care conduce apa din sol în rădăcină, sus în tulpină, în frunze şi afară în atmosferă

Pentru o plantă cultivată, gradul în care apa „se agaţă de sol” reprezintă cea mai importantă caracteristică a apei din sol. Acest concept este adesea exprimat ca „tensiunea umidităţii solului” şi este o presiune negativă exprimată în bari (*fig. 4.11.*). Când valoarea devine mai negativă, se referă la o valoare „crescândă”. Deci, pe măsură ce tensiunea apei creşte (devine mai negativă), cantitatea de energie folosită de plantă pentru a scoate apa din sol va trebui de asemenea să crească. Astfel: - 1 bar – circa 1 atm; - un sol saturat – circa 0,001 bari sau mai puţin; - la capacitatea de câmp: – 0,05 – 0,33 bari; soluri nisipoase – 0,10 bari; sol argilos – 0,33 bari;
- la punctul de ofilire pentru cele mai multe plante cultivate, circa 15 bari;
- la plante deşertice circa 50-60 bari.

De asemenea, conductivitatea hidraulică a solului se modifică în funcţie de potenţialul apei din sol (*fig. 4.12.*). Scăderea conductivităţii solului uscat este dată în principal de mişcările aerului în sol, pentru a înlocui apa. Pe măsura deplasării aerului, căile de curgere a apei printre particulele

de sol devin mai mici şi în consecinţă, curgerea este mai dificilă. O astfel de curbă este reprezentativă pentru multe soluri.

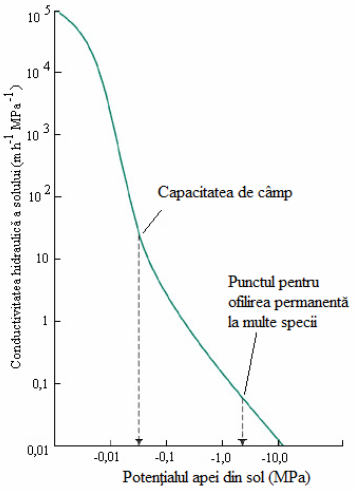


Fig. 4.12. Conductivitatea hidraulică a solului şi potenţialul apei pentru un sol argilos

În decursul unei perioade de vegetaţie, plantele extrag circa 40% din apa necesară din pătrimea superioară, 30% din următoarea pătrime, 20% din pătrimea a treia şi 10% din pătrimea bazală a zonei rădăcinii (*fig. 4.13.*).

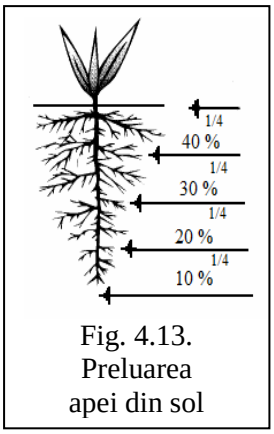


Fig. 4.13. Preluarea apei din sol

2) Concentraţia soluţiei solului

În general, soluţia solului are o concentraţie de 0,05 – 0,15%.

Apa este absorbită prin intermediul perişorilor absorbanţi, în condiţiile în care potenţialul apei soluţiei solului este mai mare, decât potenţialul apei sucului celular. Dacă soluţia solului este hipertonică faţă de sucul vacuolar al celulelor rădăcinii, este indusă exosmoza. În general, plantele de cultură nu suportă concentraţiile mari de săruri. Acestea le provoacă seceta fiziologică, dereglări fiziologice. Unele plante cultivate suportă mai astfel de condiţii, precum: sfecla, tomatele, pepenele galben. Alte plante sunt sensibile: soia, fasolea, mazărea.

Sunt însă şi plante adaptate la condiţii de sol cu concentraţii mari de săruri, cum sunt unele specii de plante spontane, halofile. În raport cu tipul de adaptare la acţiunea toxică a concentraţiilor mari de substanţe minerale în sol se disting trei categorii de plante:

1 ► *euhalofite* sau halofite tipice (ex. *Salicornia herbacea* – iarba sărată)

Acestea pot acumula ioni de clor sau sodiu în proporţie de până la 10%. Astfel, presiunea osmotică din celule creşte până la 100 bari şi pot absorbi apa din soluţia concentrată a solului. Unele halofite acumulează Cl şi Na în vacuolă, evitându-se efectul toxic asupra citoplasmei.

2 ► *glicohalofite* (ex. specii de *Artemisia* – pelin)

Aceste plante acumulează în vacuolă substanţe organice osmotic active, netoxice celulelor, precum glicerol, manitol sau prolină, ceea ce favorizează procesul de endosmoză.

3 ► *crinohalofite* (ex. specii din genurile *Statice* - imortele şi *Tamarix* – cătina roşie)

Ele nu suportă concentraţiile mari de săruri şi în consecinţă elimină o parte din acestea pe suprafaţa frunzelor, prin glande secretoare saline.

3) Temperatura solului

Temperatura scăzută diminuează absorbţia apei din cauza creşterii vâscozităţii citoplasmei, reducerii activităţii enzimatice, precum şi a reducerii intensităţii procesului de respiraţie.

Temperatura minimă pentru absorbţia apei este în jur de 0^0C la majoritatea plantelor. Intervalul optim de temperatură este cuprins între 20-30^0C. La temperaturi ridicate, de peste 40^0C absorbţia se reduce sau chiar încetează, din cauza alterării proteinelor – enzimelor implicate în procesul de respiraţie.

Efectul inhibitor al temperaturilor joase se poate demonstra dacă în cazul unei plante la ghiveci, la suprafaţa solului se pune un strat de gheaţă şi dacă atmosfera este favorabilă transpiraţiei. Planta moare după câteva ore, deoarece se instalează seceta fiziologică.

4) Aeraţia solului

Pentru realizarea absorbţiei este absolut necesară o concentraţie corespunzătoare de oxigen la nivelul rizosferei şi respectiv sistemului radicular. Prezenţa unei concentraţii necorespunzătoare de O_2, respectiv creşterea concentraţiei CO_2 la peste 10% devine toxică pentru celule.

În cazul inundaţiilor, spaţiile libere din sol fiind ocupate cu apă, plantele suferă din cauza lipsei O_2. Rezistenţa plantelor la astfel de condiţii variază cu specia, vârsta, lumina şi mai ales cu temperatura. Durata maximă de rezistenţă este de 1 – 3 zile pentru cucurbitacee; 4 – 6 zile la fasole şi cartof; 8 – 10 zile la grâu, porumb.

5) Lumina

Efectul luminii asupra absorbţiei *este indirect*.

● prin intermediul fotosintezei se asigură substratul respirator → se asigură ATP pentru transportul activ al ionilor → se generează Po → se absoarbe apa

● la lumină ostiolele se deschid; are loc transpiraţia; creşte forţa de aspiraţie a frunzelor; este stimulată absorbţia apei.

4.5. Transportul apei (şi substanţelor) în plante

4.5.1. Căile de transport a apei şi substanţelor

Transportul apei şi substanţelor dizolvate se realizează pe **două căi**:

I. ► *transportul extra-fascicular*

Transportul extra - fascicular este realizat în celula însăşi, pe distanţe mici, de la celulă la celulă, prin parenchimuri (ex. de la perişorul absorbant al rădăcinii, către xilem; în mezofilul frunzei, între nervuri) (vezi Cap. 4).

II. ► *transportul fascicular*

Transportul fascicular se realizează printr-un sistem specializat de transport, pe distanţe mari.

Astfel, seva brută este transportată prin vasele lemnoase ale xilemului (de la rădăcină către alte celule ale plantei), iar seva elaborată este transportată prin vasele liberiene ale floemului (vezi Cap. 7).

Seva brută este o soluţie diluată care conţine circa 0,05%-0,4 % substanţe solubile. Aceste substanţe provin din sol (ex. apă şi săruri minerale), din reciclarea unor compuşi care provin din seva elaborată (ex. glucide, vitamine) dar sunt şi substanţe sintetizate în rădăcină (ex. citochinine, acid abscisic). La viţa de vie, concentraţia glucidelor poate ajunge la 1% sau la arţar zaharat, la 2-4,8%. Viteza de transport este în jur de 1 m/h la tutun, până la 150 m/h la liane. Deci, compoziţia şi concentraţia elementelor minerale şi a substanţelor organice depind de factori precum: specia, asigurarea cu elemente minerale a rădăcinilor, asimilarea de elemente minerale în rădăcini şi de reciclarea nutrienţilor. De asemenea, prezintă importanţă rata transpiraţiei şi momentul zilei, precum şi modificările de pe parcursul ontogenezei plantelor.

Transportul substanţelor prin xilem

Particularităţi structurale şi funcţionale ale xilemului

Xilemul reprezintă cea mai lungă componentă a căilor de transport. Comparativ cu căile complexe existente la traversarea rădăcinii, xilemul este o cale simplă, de minimă rezistenţă, care conduce apa şi substanţele dizolvate de la rădăcini, către toate părţile aeriene ale plantei. Este alcătuit din *traheide*, în cazul criptogamelor vasculare şi gimnospermelor. Traheidele sunt celule moarte, individuale, puse cap la cap, fusiforme, lipsite de membrane şi organite, cu pereţii despărţitori perforaţi, iar pereţii celulari secundari sunt lignificaţi.

La angiosperme şi la un grup mic de gimnosperme numit *Gnetales*, xilemul este format din *trahei, parenchim lemnos* şi *fibre lemnoase*.

Vasele lemnoase sunt alcătuite din celule moarte puse cap la cap, la care pereţii despărţitori s-au resorbit şi care prezintă îngroşări inelare, spiralate, punctate sau reticulate. Acestea permit menţinerea deschisă a lumenului vaselor, chiar sub acţiunea presiunii exercitate de celulele vecine.

La plantele lemnoase, xilemul mai în vârstă încetează a mai participa la transportul sevei brute şi conferă rezistenţă mecanică trunchiului. Lemnul este xilem. Când numărăm inelele anuale ale unui pom, unul dintre inelele numărate este parte a xilemului.

Din punct de vedere ***funcţional***, Holbrook şi al. (2001) au sugerat faptul că celulele xilemului pot reprezenta mai mult decât nişte tuburi inerte. Ele par a fi un sistem sofisticat pentru reglarea şi conducerea apei către zone specifice ale plantei, care au mai multă nevoie de apă. Aceasta implică direcţionarea şi redirecţionarea moleculelor de apă prin deschideri (pori) în pereţii celulari adiacenţi, iar deplasarea apei poate implica hidrogelurile de pectine care servesc ca liant al pereţilor celulari adiacenţi. Una dintre proprietăţile hidrogelurilor de polizaharide este aceea de a mări sau micşora porul, ca urmare a imbibiţiei. Acest control al deplasării apei poate permite plantei să răspundă condițiilor de stres hidric.

Transportul apei şi substanţelor prin xilem se realizează pe baza curentului de masă.

4.5.2. Forţele care contribuie la circulaţia apei (şi substanţelor) prin xilem

Apa şi substanţele minerale absorbite de către plantă prin intermediul rădăcinii trebuie transportate în întreaga plantă, către frunze, flori, fructe. Seva brută se ridică împotriva gravitaţiei, fără ajutorul unei pompe mecanice, pentru a atinge înălţimi de peste 100 m în cazul arborilor înalţi. Cum se întâmplă aceasta ?

TACT (*Transpiraţie - Adeziune – Coeziune –Tensiune*) este un mecanism care împinge seva brută în xilem, ascendent. Forţa conducătoare este gradientul potenţialului apei, deci, sensul de transport este de la zona cu potenţial al apei mare, către zona cu potenţial al apei mic (*fig. 4.14.*).

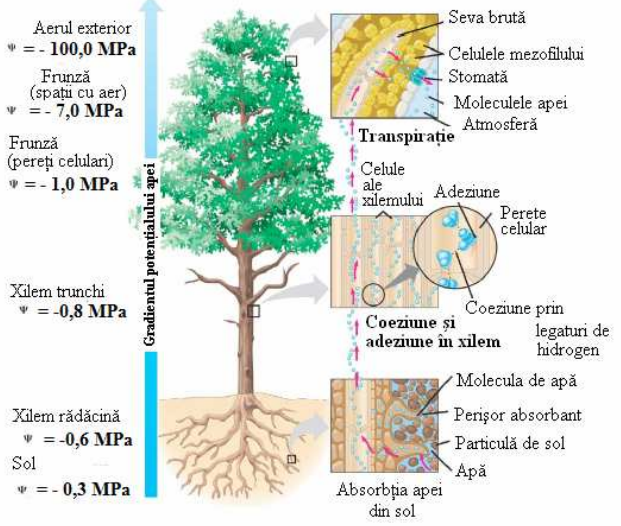


Fig. 4. 14. Transportul apei în plante

Acest ***mecanism*** constă în faptul că la nivelul frunzelor are loc procesul de *transpiraţie*. Apa sub formă de vapori părăseşte spaţiile cu aer dintre celulele mezofilului, mai ales pe cale stomatică. Apa pierdută este înlocuită prin vaporizarea stratului subţire de apă din jurul celulelor mezofilului. Ca urmare a forţei de *coeziune* dintre moleculele apei, pe măsură ce apa se pierde, ea este înlocuită. Apa are puternice proprietăţi de coeziune şi pe măsura pierderii este înlocuită. Se creează deci o *tensiune* (presiune negativă) a apei în xilem, către direcţia de eliminare.

Coeziunea este suficientă pentru a transmite această forţă, pe toate căile, către rădăcinii.

Adeziunea apei de pereţii celulari ajută de asemenea la a rezista acţiunii forţei de gravitaţie.

Deci, tensiunea creată prin procesul de transpiraţie (apariţia forţei de aspiraţie a frunzelor) cuplată cu forţele de coeziune şi adeziune susţin coloana de apă, împotriva forţei de gravitaţie.

Prin urmare, transportul prin xilem este dirijat de către gradientul presiunii hidrostatice (presiunii radiculare) şi gradientul potenţialului apei. Curentul soluţiei în xilem, de la rădăcini, către tulpini este astfel unidirecţional.

► În literatura de specialitate sunt descrise pe larg principale forţe implicate în realizarea transportului prin xilem: presiunea radiculară, forţa de aspiraţie a frunzelor şi forţele de coeziune, adeziune şi tensiune superficială.

1. Presiunea radiculară

Această forţă se manifestă primăvara, înainte de formarea frunzelor, precum şi în cazul în care umiditatea solului este mărită, iar transpiraţia este redusă. Valorile acestei presiuni sunt de regulă mai mici de 0,1 MPa, dar pot ajunge până la 0,5 MPa.

Cum se explică generarea acestei forţe ?

Rădăcina absoarbe ionii minerali din soluţia diluată a solului şi îi transportă în xilem. Ca urmare a creşterii concentraţiei substanţelor dizolvate, creşte presiunea osmotică şi respectiv scade potenţialul apei în xilem. Datorită scăderii potenţialului apei este indusă absorbţia apei, ceea ce determină crearea unei presiuni hidrostatice pozitive în xilem. Deci, ţesuturile rădăcinii funcţionează ca o celulă, ca o membrană osmotică, conducând la creşterea presiunii hidrostatice în xilem, urmare a acumulării substanţelor. Având în vedere că pentru transportul ionilor transmembranal, în general se consumă energie metabolică, spunem că această forţă este activă şi pozitivă.

Noaptea transpiraţia este aproape nulă. Totuşi, celulele rădăcinii continuă să transporte activ substanţe minerale în cilindrul central. Acest transport activ determină scăderea potenţialul apei în cilindrul central, iar apa curge pasiv în rădăcină împinsă fiind împotriva forţei de gravitaţie. Apa ajunsă în frunze este adesea forţată să iasă afară, cauzând gutaţia.

Totuşi, în multe cazuri, presiunea radiculară nu reprezintă mecanismul primar al transportului prin xilem. Pomii înalţi aproape că nu generează presiune radiculară.

2. Forţa de aspiraţie a frunzelor

La nivelul frunzelor, apa şi sărurile minerale transportate prin vasele lemnoase sunt distribuite prin intermediul ramificaţiilor acestora divizate foarte fin în nervuri..

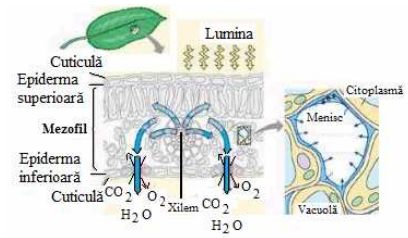


Fig.4.15. Generarea forţei de aspiraţie a frunzelor

Din nervuri, apa ajunge în celulele frunzei şi de-a lungul pereţilor celulari ai acestora. La suprafaţa pereţilor celulari se dezvoltă o presiune negativă, care provoacă urcarea apei prin xilem.

Explicaţia generării acestei forţe!

Apa aderă pe microfibrilele celulozice şi alte componente hidrofile ale peretelui celular. Celulele mezofilului frunzei aflându-se în contact direct cu atmosfera prin intermediul unui sistem bogat de spaţii intercelulare, la început apa se vaporizează dintr-un strat subţire de-a lungul acestor spaţii. Pe măsură ce apa se pierde, suprafaţa apă-aer se curbează mult. Rezultă meniscuri microscopice şi tensiunea superficială generată induce o presiune negativă în apă. Această presiune negativă creşte pe măsura pierderii apei (*fig. 4.15.*).

Fig. 4.16. *Sequoia sempervirens*

Prin urmare, forţa de aspiraţie a frunzelor este generată la interfaţa aer - apă din frunză. Este o forţă negativă şi pasivă, fiind indusă de procesul de transpiraţie. Acţiunea ei se transmite prin xilem către rădăcini, iar potenţialul apei rădăcinii devine tot mai negativ. Apa din sol este atrasă, ca urmare a gradientului de difuziune.

În privinţa valorilor acestei forţe, se apreciază că pentru ascensiunea apei în cei mai înalţi arbori (circa 100 m înălţime;) este necesară o diferenţă de presiune între baza şi vârful ramurilor de circa 3 MPa. Cel mai înalt arbore cunoscut pe Terra este *Sequoia sempervirens* (112,34 m), în nordul Californiei (*fig. 4.16.*).

3. Forţele de adeziune, coeziune şi tensiune superficială

Menţinerea neîntreruptă a coloanei sevei brute se datorează coeziunii dintre moleculele apei (atracţiei mutuale dintre acestea), cât şi adeziunii (atracţiei apei de către peretele celular).

De altfel, forţa de coeziune, forţa de adeziune şi tensiunea superficială (care se realizează la interfaţa apă-aer şi care este foarte importantă în generarea forţei care împinge apa către vârful pomilor*) dau naştere forţei de capilaritate.*

Teoria coeziunii-tensiunii (C-T) a fost propusă de Dixon şi Joly (1894) şi conform acesteia apa urcă în plante ca urmare a unei forţe conducătoare generată de tensiunea superficială la nivelul suprafeţelor de evaporare ale frunzei (Tyree, 1997). Tensiunea este transmisă printr-o coloană continuă de apă, de la frunze, către vârfurile rădăcinii şi prin toate părţile apoplastului, în fiecare organ al plantei. În capilarele vaselor se pot forma şi bule de aer, iar numărul acestora creşte, pe măsură ce creşte presiunea negativă (ex. datorită îngheţului iarna, stresului hidric din timpul verii etc),. Prin urmare, are loc *generarea embolismului,* respectiv ocluzia vaselor (fenomen demonstrat prima oară de Milburn și Johnson, 1966) şi prevenirea transportului apei.

Cavitaţia xilemului diminuează capacitatea plantelor de a transporta seva brută din sol, către frunze. Prin cercetările efectuate, s-a demonstrat că la interfaţa dintre lichidul şi gazul dintr-un capilar deschis la un capăt se generează un *curent de masă Marangoni*, împotriva forţei de gravitaţie. Denumirea a fost dată în onoarea fizicianului italian Marangoni, care l-a explicat în secolul XIX (Scriven și Sternling, 1960). Forţa care ia naştere la nivelul meniscului cu concavitatea mai mare (inferior) depăşeşte pe cea generată în meniscul cu concavitatea mai mică (superior). Se generează astfel o forţă, care determină ascensiunea sevei brute prin vasul lemnos.

Plantele sunt capabile să refacă conductivitatea hidraulică prin:

● producerea a noi vase de xilem, la plantele care au capacitatea de creştere secundară şi care pot produce nou xilem pentru înlocuire (valabil pentru pomi şi arbuşti);

● reumplerea vaselor cavitate, prin creşterea presiunii pe gaz, aşa încât gazul să se dizolve în faza lichidă înconjurătoare.

În privinţa mecanismului reumplerii sunt descrise trei posibilităţi:

1 ● presiunea radiculară acţionează când solul este saturat cu apă şi rata transpiraţiei este redusă;

2 ● presiunea tulpinii: la unele plante este transportată apa în tulpină, când temperatura scade aproape de punctul de îngheţ sau sub punctul de îngheț;

3 ● presurizarea locală.

Reumplerea locală a unui singur vas, ori a câtorva celule vecine reprezintă de fapt cel mai interesant mecanism din punct de vedere ecologic. Plantele pot astfel să-şi refacă conductivitatea pe parcursul perioadei de transpiraţie activă şi să se adapteze modificărilor condiţiilor în timpul zilei (Clearwater şi Goldstein, 2005; Shen și al., 2008). Pomii constituie un sistem potrivit pentru studiul transportului apei pe distanțe mari. Există un echilibru dinamic între apariția embolismului și revenirea din cursul zilei. Eliberarea zilnică a apei din xilem pe calea cavitației poate servi la stabilizarea balanței hidrice în frunză, prin minimizarea dezechilibrului temporal, dintre aprovizionarea cu apă și cerințele pentru aceasta (Meinzer, F.C. și al. 2001).

Viteza de transport a sevei brute prin xilem şi destinaţia substanţelor

Viteza de transport a sevei brute variază cu specia (1 m/h la *Nicotiana*; 150 m/h la lianele din pădurile ecuatoriale), precum şi cu diametrul vaselor lemnoase (la pomii fructiferi: 1-6 m/h la un diametru de 25 -75 μm; 16 -45 m/h la un diametru de 100-200 μm).

Apa este transportată în cea mai mare parte prin apoplast, spre stomate, urmând a fi eliminată prin procesul de transpiraţie. O parte din apă este reținută de către celulele frunzelor pentru nevoile proprii, iar o altă parte se transportă către vasele liberiene.

Substanţele existente în seva brută:
▪ pot fi absorbite de celulele vii din jur;
▪ pot fi depozitate în celulele parenchimului lemnos;
▪ pot fi depozitate în celulele frunzelor;
▪ pot fi depozitate în organe de depozitare (fructe, seminţe etc.);
▪ pot fi translocate prin celulele mezofilului foliar spre floem, intrând în alcătuirea sevei elaborate etc.

4.6. Eliminarea apei din plante

Din cantitatea totală de apă şi substanţe minerale absorbită şi transportată în plantă, se utilizează nu numai substanţe minerale, ci şi o mică parte de apă (circa 2%). Cea mai mare parte de apă însă este eliminată în mediu (circa 98%).

Eliminarea apei se realizează pe **două căi**:
I. ► *transpiraţie*
II.► *gutaţie*

4.6.1. Transpiraţia

Transpiraţia reprezintă *procesul de eliminare a apei din plante sub formă de vapori, la nivelul ostiolelor stomatelor, porilor cuticulei şi lenticelelor*.

Procesul se desfășoară în cursul zilei, precum și în cursul nopții, ponderea celui din urmă fiind de doar 5% din total. Este un proces specific tuturor plantelor terestre și se desfășoară cu intensitate diferită, prin toate organele plantelor, exceptând rădăcinile. Cantitatea de apă pierdută variază cu specia. Spre exemplu, la o plantă de porumb care absoarbe circa 250 litri de apă pe parcursul unui sezon de vegetație, se elimină circa 98%.

Organul specializat pentru transpirație este frunza, deoarece:

● are o suprafață mare de contact cu atmosfera;
● are o grosime foarte mică, așa încât apa de la vasele lemnoase ajunge ușor pe cele două suprafețe ale frunzei;
● este alcătuită din două țesuturi, palisadic și lacunos, în ultimul având loc vaporizarea apei;
● este prevăzută cu celule specializate (stomate): cele mai eficiente structuri pentru eliminarea apei (*fig.4.17.*).

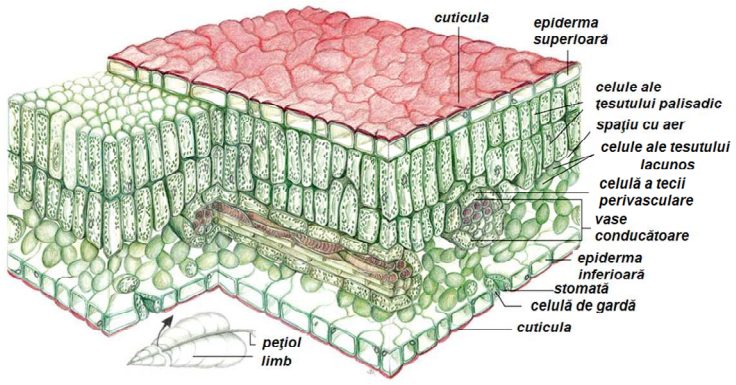


Fig.4.17. Frunza - organ specializat pentru transpiraţie

Importanţa transpiraţiei

Transpiraţia este considerată ***un rău necesar plantelor***.

Dezavantaje:
► se pierd cantităţi foarte mari de apă; din total apă absorbită de către plantă se pierde circa 98%;
► transpirația intensă cauzează ofilirea temporară a plantelor în jurul prânzului (T/A supraunitar), iar persistența în timp determină ofilirea permanentă;

*Avantaje***:**
► reglează viteza de absorbție și continuitatea circulaţiei apei şi sărurilor minerale în plantă;
► asigură un control al gradului de saturare al celulelor cu apă;

► asigură reglarea temperaturii plantei (răcirea);
► prin transpiraţie se deshidratează anumite ţesuturi de rezervă, iar procesul de maturare a fructelor este favorizat;
►are efecte favorabile asupra ratei creşterii şi dezvoltării plantelor, în condiţiile în care în sol există suficientă apă, disponibilă din punct de vedere fiziologic etc.

4.6.1.1. Tipurile de transpirație

Se disting ***trei tipuri*** de transpiraţie:

1. ***Transpiraţie stomatică***

Transpiraţia stomatică ocupă ponderea (circa 90-97% din transpirația totală). Eliminarea apei are loc prin porul complexului stomatic (ostiolă) situat la nivelul epidermei frunzei sau a altui organ verde al plantei (ex. tulpină). Stomatele sunt formațiuni specializate, localizate pe fața superioară a frunzelor (frunze epistomatice), pe fața inferioară (frunze hipostomatice – la circa 71% dintre plantele lemnoase) sau pe ambele fețe (amfistomatice – majoritatea plantelor de cultură).

2. ***Transpiraţie cuticulară***

Eliminarea vaporilor de apă are loc de pe suprafeţele acoperite de cutină, la nivelul tulpinii, fructelor, petalelor florilor, frunzelor (exceptând însă ostiola).

Cuticula reprezintă un înveliș abiotic generat de către celulele epidermice, alcătuit din polizaharide, polimeri ai acizilor grași (cutină) și ceruri. Ea reglează pierderile de apă pe cale non – stomatică. Totodată, acţionează ca substrat pentru adeziunea microorganismelor și ca primă barieră protectoare împotriva radiaţiilor ultraviolete, şi a atacurilor bacteriilor şi ciupercilor (Mariani şi Wolters-Arts, 2000; Yephremov și Schreiber, 2005). Transpiraţia cuticulară este mediată de porii cuticulei, de ectodesme și reprezintă aproximativ 3-9% din transpirația totală. Componentele cuticulei fiind de natură lipidică au o permeabilitate scăzută. Spre exemplu: la cactacee, transpiraţia cuticulară reprezintă 1-2% din transpirația totală, la plantele mezofile 10-25%, iar la plantele hidrofile poate ajunge la 60-70%. În cazul plantelor cu cuticula foarte groasă (ex. *Hedera helix*) nu are loc transpirația cuticulară.

Apa eliminată pe această cale provine din apoplast sau din simplast. În cazul al doilea, apa este transportată prin ectodesme. Dacă porii cuticulei corespund cu ectodesmele se formează adevărate canale.

Raportul dintre cele două tipuri prezentate este în general în favoarea celei stomatice. Rolul fiziologic al acestor procese a constituit subiect de cercetare pentru numeroşi specialişti (Tripton şi White, 1995; Kestiens, 1996; Schreiber şi Riederer, 1996 etc).

3. ***Transpirația lenticelară***

Transpiraţia lenticelară se realizează în cazul tulpinilor, ramurilor, fructelor și frunzelor de conifere.

Lenticelele sunt zone permanent deschise, respectiv mase de țesut sferic biconvex la nivel de periderm (zone pline cu material celular mort). Spre exemplu: la o ramură de 1 an de *Gleditsia triacanthos* cu lungimea de 20 cm sunt 72-210 lenticele. Peridermul la tuberculul de *Solanum tuberosum* are o lenticelă pe cm^2 . Peridermul constă din 3-15 straturi de celule suberificate.

4.6.1.2. Particularităţile structurale şi funcţionale ale complexului stomatic

Complexul stomatic este alcătuit din următoarele componente:
● două celule specializate denumite *celule de gardă;*
● un orificiu numit *ostiolă* (mărginit de celulele de gardă);
● *celule anexe*;
● *camera substomatică*.

Celulele de gardă sunt de diferite forme, dar se disting două tipuri principale:
a) tipul *gramineu* (sub formă de haltere): specific pentru plantele ierboase şi alte câteva monocotiledonate;
b) tipul *amarilideu* (sub formă reniformă): la toate dicotiledonatele, multe monocotiledonate şi gimnosperme (*fig.4.18.*).

Spre deosebire de celulele epidermice obişnuite, celulele de gardă prezintă anumite particularităţi:
▪ sunt mai mici ca suprafață, comparativ cu celulele epidermice;
▪ conțin cloroplaste și desfășoară procesul de fotosinteză, față de celulele epidermice, care nu au cloroplaste;
▪ pereții celulari sunt inegal îngroșați, comparativ cu celulele epidermice, care au pereți celulari egali ca grosime; cel din jurul ostiolei este mai gros și neelastic, în timp ce pereții celulari externi sunt mai subțiri și elastici;
▪ acumulează amidon pe parcursul nopții și în cursul zilei se realizează conversia la glucide, în timp ce pentru celulele mezofilului, la dicotiledonate acumularea amidonului are loc ziua, iar noaptea scade cantitatea acestuia;
▪ microfibrilele de celuloză din pereții celulari au o orientare radială de la porul stomatic; aceasta determină curbarea celulelor către exterior, în timpul deschiderii ostiolelor; la celulele obișnuite, microfibrilele sunt orientate transversal pe axa lungă a celulei și ca urmare, celulele se extind în direcţia axei lor lungi;
▪ la unele plante, celulele de gardă sunt înconjurate de celule anexe; acestea sunt celule epidermice ușor modificate față de restul celulelor epidermice şi acționează ca un tampon elastic, între celulele de gardă și cele epidermice, protejându-le de presiune și tensiune.

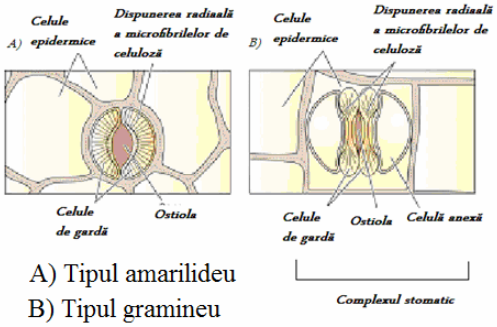


Fig. 4.18. Principalele tipuri de complexe stomatice

După Davies şi al. (1973), citat de Kozlowski şi Pallardy (1997), mărimea stomatelor (lungimea celulelor de gardă) variază la 27 specii de pomi de la 17 la 65 μm şi frecvenţa stomatelor variază de la circa 100, până la 600 pe mm^2 de suprafaţă foliară.

Căile străbătute de vaporii de apă, din frunză către atmosferă şi factorii care controlează deplasarea vaporilor

Apa provenită din vasele lemnoase este transportată prin celulele parenchimului, pe calea apoplastului și la nivelul camerei substomatice se realizează vaporizarea. Eliminarea vaporilor de apă existenţi la suprafaţa celulelor şi localizaţi în spaţiul intercelular de la nivelul acestui mediu saturat în vapori necesită o deplasare spre mediul ambiant (cu o umiditate relativă mai redusă), în principal pe baza difuziunii, trecând prin ostiolele stomatelor.

Aşa cum se observă în *fig. 4.19.*, în mod arbitrar **sunt străbătute trei regiuni**:
► *spaţiul plin cu aer din interiorul frunzei;*
► *porul stomatic (ostiola);*
► *stratul de aer de la suprafaţa frunzei.*

Deoarece la baza transportului stă în principal difuziunea, controlul este realizat în principiu de *gradientul de concentraţie al vaporilor de apă*, respectiv de diferenţa de concentraţie a vaporilor din spaţiile intercelulare ale frunzei şi concentraţia vaporilor de apă din aerul exterior ($C_{wv\ (frunză)} - C_{wv\ (aer)}$).

Un al doilea factor este rezistenţa difuzională a căii de transpiraţie şi în acest context se poate vorbi despre două componente. Prima şi totodată cea mai importantă este rezistenţa asociată cu difuziunea prin porul stomatic (r_s), iar cea de-a doua este rezistenţa dată de stratul de aer de la suprafaţa frunzei (r_b).

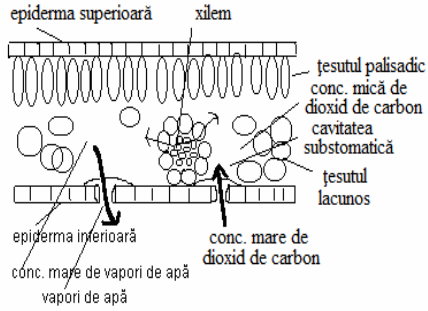


Fig. 4. 19. Căile străbătute de vaporii de apă

În consecinţă, rata transpiraţiei poate fi redată prin următoarea ecuaţie:

$$\text{Transpiraţia (mol m}^{-2}\text{s}^{-1}) = \frac{C_{wv\ (frunză)} - C_{wv\ (aer)}}{r_s + r_b}$$

Controlul deschiderii şi închiderii ostiolei stomatelor

a) Aspecte generale

Deşi cuticula care acoperă suprafaţa organelor plantelor constituie o barieră pentru pierderea apei, existenţa unei bariere complete pentru pierderea apei ar însemna blocarea simultană a schimbului gazos de O_2 şi CO_2, cu importanţă capitală pentru desfăşurarea proceselor de respiraţie şi fotosinteză. În consecinţă, plantele nu pot preveni difuziunea spre exterior a vaporilor de apă, fără ca în acelaşi timp să împiedice pătrunderea CO_2 în frunză. Rezolvarea acestei probleme implică *reglarea în timp a deschiderii ostiolei.*

Noaptea, când nu are loc fotosinteza şi nu se cere CO_2 în frunză, ostiola este menţinută mică, prevenind pierderea de apă. Primăvara, în dimineţi cu soare, când necesarul de apă este mare şi când activitatea fotosintetică este intensă, cererea pentru CO_2 este mare. Ca urmare, ostiola va fi deschisă larg, scăzând rezistenţa stomatică pentru difuzia CO_2. În cursul verii, dimineaţa, când cantitatea de apă din sol este redusă, stomatele vor fi menţinute chiar închise sau foarte puţin deschise. Astfel, planta evită deshidratarea.

Acest control biologic se datorează celulelor de gardă, care funcţionează ca nişte *valve hidraulice multisenzor*. Factorii de mediu, precum lumina (prin intensitatea şi compoziţia sa spectrală), temperatura, umiditatea relativă, concentraţia intracelulară de CO_2, statusul plantei în privinţa aprovizionării cu apă şi hormonii vegetali (în special acidul abscisic) sunt percepuţi de celulele de gardă, iar semnalele induse determină răspunsuri specifice (Assmann şi Shimazaki, 1999).

Pe baza timpului de deschidere a ostiolei, mişcarea stomatelor este de două tipuri:

► *mişcarea foto - activă*;

► *mişcarea scoto - activă*.

Primul tip de mişcare este controlat în mod direct sau indirect de către lumină. Ostiolele se deschid ziua, la aproape toate plantele. Al doilea tip de mişcare nu este controlat de lumină. Ostiolele se deschid noaptea, la plantele cu tipul fotosintetic CAM.

În general, mişcarea de deschidere şi închidere a ostiolei este dependentă de gradul de aprovizionare cu apă a celulelor de gardă (în relație cu funcționarea pompelor de ioni și îngroșarea neuniformă a pereților celulari).

Dacă celulele de gardă sunt turgescente, ostiolele se deschid şi invers, dacă celulele de gardă sunt plasmolizate, ostiolele se închid. De menționat faptul că, creșterea volumului celulelor de gardă în stare de turgescență se face în detrimentul celulelor anexă. Prin urmare, volumul complexului stomatic în întregul său nu se modifică niciodată.

Sunt însă şi situaţii extreme, când spre exemplu, ostiolele stomatelor se închid hidropasiv, în condiţiile unei umidităţi mărite la nivelul solului. Aceasta determină creşterea stării de turgescenţă a celulelor, inclusiv a celor anexe, care presează asupra celulelor de gardă şi ostiola se închide. Lipsa

apei din sol are un efect stresant asupra rădăcinilor şi se determină biosinteza acidului abscisic. Acesta este transportat în frunze. Se produce o reacţie feedback, care inhibă transportul ionilor în celulele de gardă sau determină creşterea permeabilităţii membranelor şi ieşirea ionilor, aşa încât ostiolele se închid hidroactiv.

În primele decade ale secolului trecut, *conceptul clasic* al fiziologiei stomatelor era ipoteza amidon-glucid simplu (propusă de Lloyd în 1908). Conform acestei ipoteze, pe parcursul nopții crește cantitatea de amidon în celulele de gardă, ceea ce determină închiderea stomatelor. Ziua are loc conversia amidonului la glucide simple şi se determină deschiderea stomatelor, datorită creșterii presiunii osmotice la nivelul celulelor de gardă și a endosmozei.

Odată cu descoperirea fluxului K^+ (prima raportare în 1943 de către Imamura în Japonia) s-a precizat rolul central al ionilor în mişcarea celulelor de gardă. De asemenea, astăzi, această *teorie modernă* propusă de Levitt (1974) implică pe lângă transportul K^+ și reglarea hormonală. De altfel, deoarece celulelor de gardă mature le lipsesc plasmodesmele, pătrunderea şi efluxul substanțelor trebuie să aibă loc pe calea canalelor și transportorilor de ioni din plasmalemă.

Concentraţia K^+ creşte de câteva ori în celulele de gardă, când ostiola este deschisă (de la circa 100 mM în stare închisă, până la 400-800 mM în stare deschisă). De asemenea, în timpul deschiderii şi Cl^- este preluat şi respectiv eliberat în timpul închiderii. După Ward şi al.(1995), vacuola reprezintă peste 90% din volumul celulelor de gardă ale stomatelor. În timpul închiderii ostiolelor, peste 90% din anionii şi potasiul din vacuolă sunt transportaţi în celulele anexă. Pentru a se realiza transportul ionilor sunt implicate mecanisme active. Observaţia că protonii sunt eliminaţi în apoplast, în perioada deschiderii ostiolei, conduce la ipoteza că gradientul protonilor în celulele de gardă generează o forţă motrice, care dirijează forţa pentru absorbţia ionilor.

În urma cercetărilor efectuate de Esser şi al.(1997) s-a demonstrat că acidul abscisic (ABA) a indus închiderea ostiolelor, sugerându-se că ABA a activat protein kinazele şi/sau a inhibat protein fosfatazele, Astfel, se pot activa canalele de anioni din celulele de gardă ale complexului stomatic şi se poate media închiderea ostiolelor stomatelor la *Vicia faba*.

b) Deschiderea și închiderea foto-activă a stomatelor

La începutul zilei, **lumina *stimulează deschiderea ostiolei*** la cele mai multe specii de plante, prin determinarea creșterii concentrației soluției la nivelul celulelor de gardă și scăderea potențialului apei, ceea ce induce endosmoza (Schroeder și al. 2001). Creșterea presiunii de turgescență a celulelor de gardă determină mărirea volumului acestora și deschiderea ostiolei, în relație și cu caracteristicile pereților celulari.

Atât lumina roșie, cât și lumina albastră stimulează deschiderea stomatelor.

Răspunsul la lumină implică două componente:

- o componentă implică spectrul de absorbţie al clorofilei, urmare a prezenţei cloroplastelor în celulele de gardă;
- a doua componentă este activată în mod specific de lumina albastră, recepționată de fotoreceptori specifici (flavoproteine) situați în plasmalemă.

De altfel, răspunsurile de deschidere sunt obținute prin coordonarea semnalului luminii, conversia energiei luminoase, transportul membranal al ionilor și activitatea metabolică a celulelor de gardă. Răspunsul stomatelor la lumina albastră pare a fi puternic afectat de lumina roșie. Există o interacțiune între semnalul luminii albastre și cloroplastele celulelor de gardă (Shimazaki și al. 2007).

Lumina activează H^+ –ATP-aza din plasmalema celulelor de gardă. Are loc transportul protonilor în apoplast și se determină hiperpolarizarea membranei plasmatice. Potențialul electric transmembranal crește la -100 mV. În consecință, se deschid canalele de K^+ acționate voltaic și K^+ *intră* în celulele de gardă prin *canalele in* (ex. KAT1, KAR2, AKT1) (Fan și al., 2004). Anionii pătrund pe calea transportorilor de tip simport H^+ / Cl^- și H^+ / NO_3^- . Acumularea ionilor, a acidului malic și a glucidelor (zaharozei) scade potențialul apei la nivelul celulelor de gardă. În consecinţă,

se determină endosmoza și creșterea presiunii de turgescență. Nitratul este unul dintre ionii care contrabalansează intrarea K^+, pe baza simportului H^+ cuplat cu NO_3^- (Guo și al. 2003).

La lăsarea serii, gradul de deschidere al ostiolei scade, iar noaptea stomatele sunt aproape închise, reducându-se transpirația și schimbul de gaze. *Închiderea stomatelor* începe cu depolarizarea membranelor (-40 mV). Depolarizarea la întuneric este determinată de inhibarea activității pompei de protoni din plasmalemă și activarea canalelor care mediază *efluxul* pasiv al anionilor Cl^-, $malat^{2-}$ și NO_3^-. Depolarizarea membranei creează forța conducătoare pentru efluxul K^+ *pe baza canalelor out*. De asemenea, se remarcă faptul că înainte sau asociat închiderii stomatelor crește concentrația calciului liber în citosol (Ca^{2+}_{cyt}) pe calea canalelor pentru Ca^{2+}. Acestea sunt situate la nivel de plasmalemă, dar și la nivelul sistemului de endomembrane. Pierderea de K^+ (canalul principal *out* se sugerează a fi *GORK*) și a anionilor determină scăderea concentrației sucului celular al celulelor de gardă, efluxul apei și pierderea turgescenței celulelor de gardă (*fig.4.20.*).

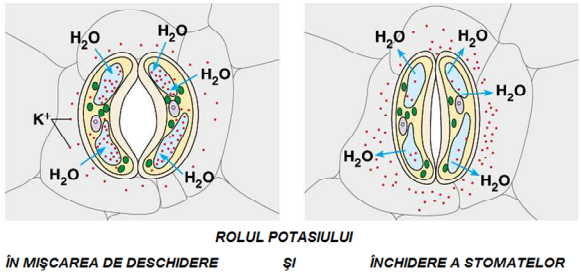


Fig. 4.20. Deschiderea și închiderea stomatelor

Cercetările efectuate de Furuichi și al. (2008) au evidenţiat faptul că activarea canalelor permeabile mecano- senzitive pentru Ca^{2+} (de către curbura convexă) atenuează deschiderea. Nu se promovează însă închiderea lor, ceea ce constituie un nou mecanism de menținere a deschiderii ostiolei, prin senzor mecanic.

Modelele canalelor de ioni și a transportorilor implicaţi în deschiderea și închiderea stomatelor sunt redate în *figura 4.21.* şi au fost de asemenea descrise recent de către Pandey și al. (2007).

Reglarea gradului de deschidere a stomatelor în cursul zilei *se realizează sub acțiunea a diverși factori.*

În zilele toride de vară, la prânz, din cauza transpirației scade gradul de turgescență al celulelor de gardă și stomatele se închid.

În cazul stresului hidric la nivelul solului are loc biosinteza acidului abscisic (ABA) şi transportul către frunze (în 1-2 ore). Creșterea cantității de ABA în celulele de gardă, declanșează efluxul ionilor, pierderea apei și a presiunii de turgescență, inducându-se *închiderea hidroactivă a stomatelor*. Acțiunea sa constă în descompunerea inozitol-fosfo-lipidelor din membrane. Inozitol-fosfatul este un mesager chimic care inhibă pompele de protoni, activează pompele de calciu, scade potențialul bioelectric și se deschid canale de K out. De asemenea, ABA previne deschiderea stomatelor indusă de lumină. ABA și Ca^{2+} au un efect sinergic în procesul de inhibare a deschiderii stomatelor. Creșterea Ca^{2+} citosolic stimulată de ABA se datorează probabil atât absorbției de calciu din spațiul extracelular (prin canale permeabile neselective pentru Ca^{2+}), cât și eliberării din locurile de stocare intracelulară (ex. vacuolă).

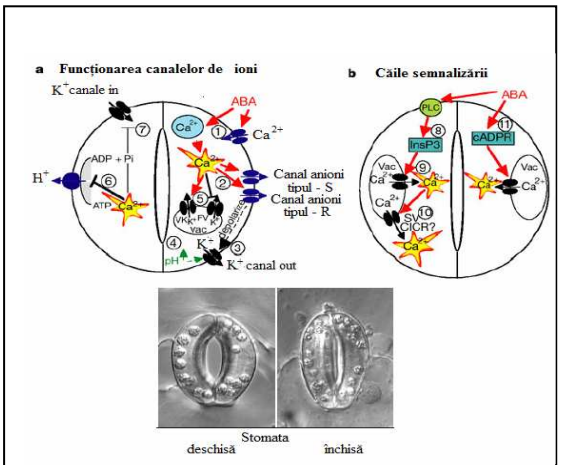


Fig. 4.21. Funcţionarea canalelor de ioni şi căile semnalizării
(după Schroeder şi Allen, 2001)

Umiditatea mărită în sol determină creșterea gradului de turgescență a celulelor de gardă, inclusiv a celulelor anexă care presează asupra celulelor de gardă, iar stomatele *se închid hidropasiv*.

c) Deschiderea și închiderea scoto-activă a stomatelor

Pentru maximizarea eficienței folosirii apei, la suculente (și nu numai) ***stomatele se deschid noaptea*** *și se mențin închise ziua*. Aceasta reprezintă o adaptare la condițiile de stres hidric în care trăiesc.

Noaptea, amidonul este transformat enzimatic la acid fosfoenolpiruvic (PEP). PEP fixează CO_2 și se formează acidul malic, care se depozitează în vacuolă și se inhibă propria sa sinteză. Astfel, la nivelul citoplasmei scade concentrația CO_2 și în consecință se favorizează deschiderea stomatelor. În celulele de gardă, acidul malic se descompune în anionul malat și H^+. Are loc schimbul protonilor, cu K^+ din celule anexe, iar potențialul osmotic al celulelor de gardă crește. Se determină endosmoza, celulele de gardă devin turgescente și stomatele se deschid.

Ziua, acidul malic depozitat în vacuole este decarboxilat, formându-se acid piruvic și CO_2. Dioxidul de carbon este redus fotosintetic prin intermediul căii C_3 la nivel de cloroplast. Se formează astfel hidrați de carbon. În cursul zilei poate interveni o deficiență de oxigen, iar în astfel de condiții, glicoliza nu poate fi urmată de ciclul Krebs. Aceasta poate determina biodegradarea anaerobă a glucidelor. În consecință, se acumulează PEP și CO_2, iar creșterea concentrației interne de CO_2 menține stomatele închise.

4.6.1.3. Influenţa factorilor asupra transpiraţiei

Procesul de transpiraţie este influenţat de numeroşi *factori externi* şi *interni.*

<u>Principalii factori externi</u> care influenţează transpiraţia sunt: lumina, umiditatea atmosferică, temperatura aerului, curenţii de aer, disponibilitatea apei în sol, aprovizionarea cu elemente minerale etc.

1. Lumina influenţează transpiraţia atât în mod direct, cât şi indirect.

● *Efectul direct* se datorează acţiunii sale calorice. Frunzele au capacitatea de a absorbi energia luminoasă şi o mare parte din energia absorbită este transformată în energie calorică, ceea ce ridică temperatura frunzelor şi intensifică transpiraţia.

● *Efectul indirect* este în legătură cu mişcarea stomatelor, respectiv la lumină ostiolele se deschid, ceea ce intensifică transpiraţia.

2. Umiditatea și temperatura aerului

● *Umiditatea aerului* atmosferic influenţează procesul de transpiraţie prin aceea că, pe măsură ce scade umiditatea relativă a aerului, creşte deficitul presiunii vaporilor de apă şi respectiv se intensifică transpiraţia.

● *Temperatura aerului* acţionează în interrelaţie cu umiditatea relativă. La temperaturi cuprinse între 30-40^{o}C, capacitatea aerului pentru vapori de apă creşte. Aceasta determină scăderea umidităţii relative a aerului şi drept urmare, transpiraţia se intensifică. La o temperatură ridicată, diferenţa dintre presiunea vaporilor de apă din mediul înconjurător şi cea din camera substomatică creşte, iar transpiraţia se intensifică. În cazul temperaturilor excesiv de mari, în jurul prânzului, în zile de vară toride, stomatele se închid. Este o măsură de protecție față de pierderile excesive de apă.

3. Curenţii de aer, respectiv vânturile cu viteze mici îndepărtează vaporii de apă situaţi la suprafaţa frunzei, iar transpiraţia se va intensifica. Creşterea intensităţii transpiraţiei provocată de vânt nu este însă proporţională cu viteza vântului. Vânturile puternice determină închiderea stomatelor, ca urmare a șocului mecanic indus.

4. Umiditatea solului

Seceta solului determină sinteza ABA, transportul acestuia către frunze şi inducerea închiderii stomatelor, ca măsură de prezervare a apei în plantă. Apa disponibilă din sol şi accesibilă plantelor (Savage şi al., 1996), precum şi activitatea absorbantă a rădăcinilor influenţează procesul de transpiraţie. Dacă absorbţia nu poate înlocui apa pierdută prin transpiraţie, apare deficitul hidric. Un deficit hidric de durată provoacă ofilirea plantelor.

5. Concentraţia CO_2

Stomatele se deschid la o concentraţie mică de CO_2 şi se închid la concentraţii mari de CO_2 (peste 0,05%).

În privinţa *concentraţiei CO_2 din atmosferă*, măsurătorile porometrice au evidenţiat faptul că, conductanţa stomatică la plantele crescute în condiţii cu concentraţii mari de dioxid de carbon a fost mai mică, decât la frunzele martor şi raportat la plantele crescute la temperaturi ridicate. *Tradescantia* a fost capabilă să regleze conductanţa stomatică, ca răspuns la concentraţia mărită de CO_2, fără a se modifica numărul relativ de stomate prezente în frunză (Boetsch şi al., 1996). De asemenea, Polley şi al. (1997) au reliefat faptul că o creştere a concentraţiei CO_2 în atmosferă a redus adesea transpiraţia potenţială/ suprafaţa frunzei, prin reducerea conductanţei stomatice.

6. Efectele nutriţiei minerale asupra conductanţei hidraulice a rădăcinii şi a expresiei aquaporinelor

Transpiraţia, conductanţa stomatică (G_s) şi conductivitatea hidraulică a rădăcinii (L_{pr}) sunt influenţate în mare măsură de aprovizionarea plantei cu anumite elemente minerale. Când în mediul de creştere sunt deficienţe din acest punct de vedere, trei elemente nutritive (N,P,S) care sunt transportate şi metabolizate pe diferite căi, produc efecte similare asupra G_s şi L_{pr} (Clarkson şi al., 2000).

Se pune însă întrebarea, dacă închiderea ostiolelor stomatelor şi diminuarea L_{pr} sunt obiectivele centrale ale răspunsului la stres de nutrienţi şi dacă sunt elicitate printr-o secvenţă comună de evenimente. Ideea unui sistem centralizat de răspuns la stres a fost avansată de Chapin (1990). Aşa cum se remarcă în *figura 4.22*., secvenţa evenimentelor a fost în mod arbitrar divizată în două ramificaţii: prima reprezintă răspunsurile specifice la nutrienţi a sistemelor de transport, iar a doua, mai generală, se axează pe evenimentele hidraulice şi morfologice.

Au existat numeroase lucrări în care s-a precizat că deficitul în anumite elemente nutritive are ca rezultat închiderea parţială şi completă a stomatelor, chiar la plantele bine aprovizionate cu apă.

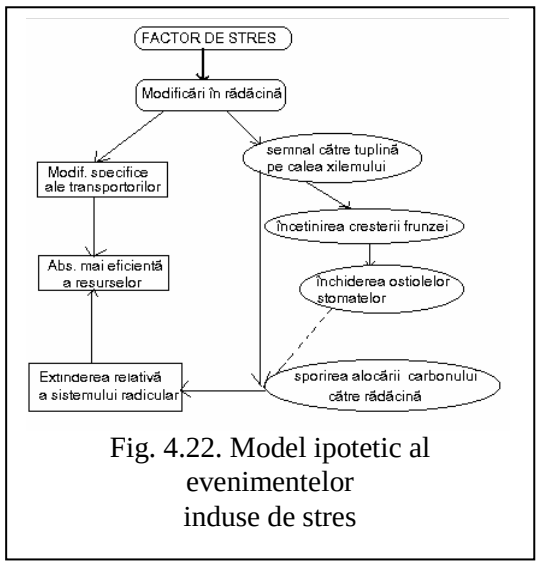

FACTOR DE STRES
Modificări în rădăcină
semnal către tuplină pe calea xilemului
Modif. specifice ale transportorilor
încetinirea cresterii frunzei
Abs. mai eficientă a resurselor
închiderea ostiolelor stomatelor
Extinderea relativă a sistemului radicular
sporirea alocării carbonului către rădăcină

Fig. 4.22. Model ipotetic al evenimentelor induse de stres

Cercetările efectuate în domeniu au oferit relaţii clare referitor la interrelaţia dintre nutriţia cu N şi P, conductanţa stomatică şi extensia frunzei (ex. la bumbac). La plantele cu deficit de P s-a stabilit că rădăcina a fost situsul diminuării conductanţei hidraulice, fapt detectat înainte de a măsura efectele asupra expansiunii frunzelor, dar că efectele asupra L_{pr} s-au diminuat, dacă temperatura rădăcinii a crescut la valori mai mari de 30°C (Radin, 1990). Deficienţa în N la ovăz şi tomate a scăzut L_{pr} în avans faţă de efectele asupra G_s şi asupra fotosintezei.

S-a observat de asemenea că la plantele aprovizionate în mod limitativ cu N şi P, o mare proporţie a asimilatelor cu carbon a fost alocată pentru creşterea rădăcinii, deşi nu toate speciile răspund la fel.

Referitor la relaţia dintre conductivitatea hidraulică a rădăcinii şi transpiraţie, în urma cercetărilor efectuate s-a evidenţiat că valoarea aparentă a L_{pr} creşte odată cu intensificarea ratei transpiraţiei. Acest fenomen a fost interpretat în diferite moduri, mai ales după descoperirea aquaporinelor.

De asemenea, în cazul deficienţelor în N s-au constatat modificări ale fluxului a doi regulatori de creştere, de la rădăcină către frunze. Astfel, a crescut cantitatea de acid abscisic la unele specii, în timp ce concentraţia citochininelor a scăzut. Totuşi, în prezent nu sunt baze solide care să argumenteze că acest flux modificat se poate raporta la descreşterea L_{pr}. Se cunoaşte faptul că, acidul abscisic poate creşte L_{pr}, dacă se aplică exogen rădăcinii (Hose şi Hartung, 1999).

Principalii factori interni care influenţează transpiraţia sunt reprezentaţi de specia de plantă, suprafaţa foliară, structura frunzei, numărul de stomate, gradul de deschidere a ostiolelor stomatelor etc.

1. Suprafaţa foliară

Cu cât suprafaţa foliară este mai mare, cu atât cantitatea de apă pierdută prin transpiraţie este mai mare. Nu există însă o relaţie de strictă proporţionalitate. La unitatea de suprafaţă, plantele mici transpiră mai mult, comparativ cu plantele de talie mare. Micşorarea suprafeţei foliare prin înlăturarea unor frunze conduce la intensificarea transpiraţiei plantelor la unitatea de suprafaţă. În livezi spre exemplu, tăierile în verde la pomii fructiferi au ca rezultat intensificarea transpiraţiei la frunzele rămase, cu toate că pierderea totală de apă este mai mare la pomii care n-au fost supuşi acestui tratament.

2. Structura frunzei

Plantele xerofile prezintă modificări structurale ale frunzelor, precum o cuticulă mai groasă, parenchim palisadic bine dezvoltat, stomate adâncite în epidermă. În cazul unei bune aprovizionări cu apă, plantele xerofile pot avea o transpiraţie mai intensă decât mezofitele, datorită unui număr mai mare de stomate la unitatea de suprafaţă foliară.

3. Stomatele – densitate, poziție, grad de deschidere

Stomatele reprezintă circa 1-2% din suprafaţa limbului foliar şi prezența lor pe ambele fețe ale frunzelor determină o transpirație mai intensă. De obicei sunt situate pe faţa inferioară a frunzelor (specii hipostomatice) sau pe ambele feţe ale frunzelor (specii amfistomatice). Cu cât numărul stomatelor este mai mare şi transpiraţia se intensifică (Saadu şi al., 2009). Dacă însă stomatele sunt prea dense, respectiv dacă distanţa dintre stomate este mai mică decât de zece ori diametrul stomatei(peste 70.000 /cm^2), intensitatea transpiraţiei scade. Intervine aşa numitul *efect de margine*.

Numărul lor variază de la zero (pe epiderma superioară a frunzei de măr), până la 58.140/ cm^2 (la nivelul epidermei inferioare a frunzei de stejar).

Unul dintre indicatorii utilizaţi este *indexul stomatic* (I).

$$I = [\ S/\ (E + S)\ ]\ *\ 100$$ unde:

S = numărul de stomate pe unitatea de suprafață;
E= numărul de celule epidermice pe aceeaşi unitate de suprafață

O valoare mare indică o creștere rapidă și un climat umed. O valoare mică indică rate mai reduse ale fotosintezei și creșterii, ori adaptare pentru uscăciune.

În funcţie de acţiunea factorilor externi şi interni au loc modificări ale gradului de deschidere a stomatelor, în relaţie cu schimbarea gradului de aprovizionare cu apă a celulelor de gardă.

4. Conţinutul în CO_2 din frunze

La o scădere a concentraţiei de CO_2 în frunze, ostiolele stomatelor se deschid. Dacă în frunze creşte concentraţia CO_2, ostiolele se închid. La plantele care au capacitatea de concentrare a dioxidului de carbon intern (vezi Cap.6), procesele sunt puţin diferite, în sensul că acestea pot să menţină un conţinut intern relativ constant al CO_2.

5. Raportul sistem radicular / parte supraterană

O valoare mare a acestui raport determină creșterea ratei transpirației, în timp ce o valoare redusă diminuează rata transpirației. Plantele mici sunt caracterizate printr-o valoare mare a acestui raport și transpiră mai mult la unitatea de suprafață foliară, comparativ cu plantele mari, la care raportul este în favoarea părții aeriene.

4.6.1.4. Indicatori fiziologici privind transpiraţia

1) Rata transpiraţiei exprimă relaţia dintre cantitatea de apă eliminată prin transpiraţie în unitatea de timp. Raportarea se realizează la material vegetal proaspăt, masă substanţă uscată, conţinut de apă sau suprafaţa plantei luată în studiu.

▪ *Transpiraţia absolută* reprezintă cantitatea de apă eliminată în procesul de transpiraţie de către întregul organ sau organism, exprimată în grame.

▪ *Transpiraţia relativă* reprezintă raportul dintre cantitatea de apă eliminată prin transpiraţie şi cea evaporată de pe o suprafaţă egală de apă, în acelaşi interval de timp. În cazul frunzelor, transpirația relativă este cuprinsă între 0,1-0,5, iar la plantele cu consum mare de apă poate ajunge la valoarea 1.

2) Coeficientul de transpiraţie reprezintă cantitatea de apă eliminată în procesul de transpiraţie, în perioada de timp în care se biosintetizează un gram de substanţă uscată. Acest indicator (determinat în condiţii controlate) oferă date utile pentru zonarea culturilor şi pentru stabilirea normelor de udare.

3) Productivitatea transpiraţiei reprezintă cantitatea de substanţă uscată produsă (exprimată în grame) corespunzător la 1000 g apă eliminată prin transpiraţie. Valorile acestui indicator sunt în jur de 3-5 g. Spre exemplu, la specia *Triticum* valoarea este 3.

4) Raportul dintre moli H_2O eliminaţi prin transpiraţie/ moli CO_2 fixaţi în cursul fotosintezei constituie un indicator al eficienţei plantelor în ceea ce priveşte optimizarea fotosintezei şi utilizarea judicioasă a apei. Pentru plantele de tip C_3 raportul este în jurul valorii 500. Pentru cele de tip C_4 este de circa 250, iar la plantele de tip CAM poate avea valori foarte mici (chiar 50). Se foloseşte de asemenea reciproca raportului şi acest indicator este denumit **eficienţa folosirii apei**. Prin urmare, la plantele la care corespunde un raport al transpiraţiei de 500, eficienţa folosirii apei este de 1/500 sau 0,002.

5) Bilanţul hidric (**A/T**) *reprezintă raportul dintre cantitatea de apă absorbită de către plante (A) şi cantitatea de apă eliminată prin procesul de transpiraţie (T), în acelaşi interval de timp*.

Activitatea vitală a plantelor depinde de echilibrul dinamic între absorbție și transpirație.

► Din punct de vedere valoric:

A/T poate fi: > 1, $= 1$, < 1

● Bilanţul hidric *are valoarea 1* în cazul plantelor bine aprovizionate cu apă, în condiţii normale, când cele două procese sunt în echilibru. Este un bilanț optim, care asigură o stare normală tuturor celulelor. Procesele fiziologice decurg cu intensitate mare și implicit producția de substanță uscată este mare.

● Bilanţul hidric *are valoarea mai mare decât 1* când spre exemplu în sol este o umiditate excesivă. Dacă absorbţia depăşeşte transpiraţia, pentru a se asigura continuitatea absorbţiei şi circulaţiei apei în plantă, precum şi pentru a se evita acumularea apei în ţesuturile plantei şi asfixia acesteia, planta recurge la eliminarea apei în exces prin gutaţie.

● Bilanţul hidric *are valoarea mai mică decât 1* când transpirația este mai intensă decât absorbția, respectiv în condiții de secetă, ceea ce determină ofilirea plantelor.

Ofilirea poate fi temporară (trecătoare), dacă este cauzată de seceta atmosferică, precum în cazul zilele de vară foarte călduroase. Frunzele și vârfurile tinere își pierd turgescența și capătă aspect de ofilire. Tulpina și alte organe însă, conțin apă în cantități normale. În acest interval de timp are loc un proces de autoreglare a transpirației, prin închiderea hidroactivă a stomatelor, iar transpirația se reduce de 5-10 ori, față de normal.

Dintre *modificările* care apar în cursul ofilirii temporare se pot aminti:

▪ creșterea permeabilității membranelor plasmatice;
▪ diminuarea gradului de dispersie a coloizilor, considerat ca un proces de coagulare;
▪ scăderea ratei fotosintezei și respirației;
▪ diminuarea ratei de creștere a plantelor, rezultatul fiind scăderea recoltei etc.

Spre seară, odată cu scăderea temperaturii și a deficitului de umiditate atmosferică, scade intensitatea transpirației și respectiv deficitul de apă din plantă. Are loc o restabilire a saturării celulelor cu apă, iar bilanțul hidric revine la normal în cursul nopții.

Un dezechilibru al regimului hidric se poate constata şi în cazul solurilor reci sau al aplicării irigării cu apă rece, în zilele călduroase de vară. Ca urmare, absorbţia apei de către plante este inhibată, dar procesul de transpiraţie se realizează în mod normal. Apare un deficit hidric indus de aşa numita "*secetă fiziologică"*, care determină ofilirea temporară.

Dacă însă la seceta atmosferică se adaugă, se accentuează și acționează și seceta solului, apare ofilirea permanentă (de durată). În astfel de condiții, deficitul de apă creat în cursul zilei se accentuează pe zi ce trece. Planta nu-și poate reface complet turgescența în cursul nopții, așa încât în ziua următoare intră deja cu un deficit de apă numit de Litvinov „ *deficit restant"*.

Întreaga activitate fiziologică și biochimică a plantei este perturbată:

▪ perișorii absorbanți mor (se întrerupe legătura dintre ei și particulele solului, prin urmare aprovizionarea plantei cu apă este deficitară);
▪ stomatele se închid hidroactiv la diferite momente din zi, transpirația este mult diminuată, dar transpirația cuticulară poate determina accentuarea deficitului de apă;
▪ în frunzele de vârstă mijlocie poate avea loc descompunerea rezervelor glucidice la compuși osmotic activi, crește forța de sucțiune la aceste celule, se absoarbe apa de la cele bătrâne sau tinere și vârfuri de creștere; în timp apare deficit și în acestea, ca și în tulpină și alte organe;
▪ apar modificări la nivelul protoplasmei (scade conținutul total de apă și de apă liberă, în schimb crește conținutul de apă legată; crește gradul de vâscozitate; se intensifică activitatea enzimelor respiratorii și deci respirația; scade rata fotosintezei și acumularea zilnică de substanță uscată; încetează procesul de creștere etc.)

De asemenea, pe lângă modificările fiziologice induse de stresul hidric, nu lipsite de importanță sunt și modificările morfologice care intervin (Săvulescu și al., 2000).

În condiții de secetă accentuată, când plantele manifestă ofilirea permanentă se impune aplicarea de irigații. Rezistența plantelor la secetă este diferită, fiind cunoscute plante nerezistente, plante cu rezistență mijlocie și plante rezistente. La cucurbitacee, precum și la plantele de umbră, fenomenul de ofilire apare când în plante deficitul de saturare cu apă este de 2-3%. În schimb, plantele fotofile, precum floarea soarelui se ofilesc la un deficit de saturare cu apă de 25-30%.

►Importanţa antitranspiranților

Antitranspiranții sunt compuși care se aplică plantelor pentru diminuarea transpirației. Spre exemplu, aceştia se aplică pentru pomii de Crăciun, la flori tăiate, arbuști proaspăt transplantați etc. Scopul aplicării lor este acela de a prezerva apa şi de a proteja plantele. Pot fi aplicați prin stropire şi acoperă stomatele ca un film. Se pot aplica de asemenea la nivelul sistemului radicular şi determină intrarea acestuia într-un stadiu de dormanță temporară. Totodată, aplicarea la rădăcină poate înlocui efectele regulatorilor de creştere. Se controlează astfel creşterea plantelor pentru 3-4 săptămâni, până când se va trece la udarea regulată. Antitranspiranţii se recomandă pentru toate tipurile de plante containerizate. Se determină întârzierea creșterii efective, dar se îmbunătățește calitatea plantei.

4.6.2. Gutaţia

Gutaţia reprezintă *procesul de eliminare a apei din plante sub formă de picături,* la nivelul unor formaţiuni specializate denumite hidatode, în condiţiile în care bilanţul hidric (Absorbţie/Transpiraţie) are valori supraunitare.

Gutaţia este specifică plantelor din zonele ecuatoriale.

În climatul ţării noastre, procesul are loc când după zile călduroase urmează nopţi reci, sau când după o perioadă călduroasă, urmează invazia unor mase reci de aer. Având în vedere faptul că solul îşi menţine temperatura ridicată mai mult timp, iar absorbţia apei continuă să se realizeze, temperatura aerului fiind mică şi respectiv umiditatea aerului având valori apropiate 100%, planta recurge la eliminarea excesului de apă prin gutaţie. De altfel, pentru evitarea asfixiei şi pentru asigurarea continuităţii procesului de absorbţie şi transport în plantă a apei şi sărurilor minerale, se recurge la acest proces.

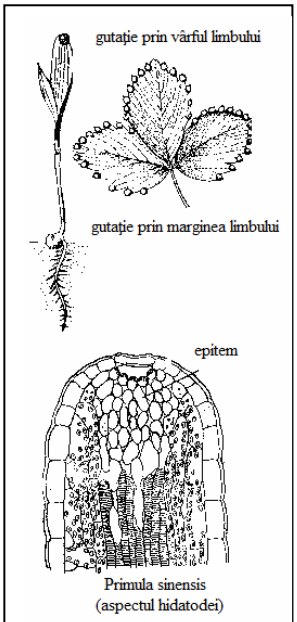


Fig. 4.23 Gutaţia (dupa Milică şi al., 1982)

Eliminarea apei pe această cale presupune existenţa unor structuri specializate denumite **hidatode** (*fig. 4.23.*), care sunt diferite din punct de vedere anatomic şi funcţional (Takeda şi Glenn, 1989; Lersten şi Curtis, 1991).

Hidatodele pot fi închise (active) sau deschise (pasive).

Hidatodele de tip activ sunt formate din una sau mai multe celule epidermice normale sau modificate în peri (ex. la *Phaseolus* sunt peri uni sau pluricelulari), care acumulează apa și o elimină sub formă de picături, în condiții de mediu prielnice. În apropierea hidatodelor se găsesc terminațiile vaselor lemnoase, care în permanență asigură apă.

Hidatodele de tip pasiv sunt situate în vârful frunzelor (ex. la *Fragaria sp.*). Ele constau din două celule stomatice moarte, între care se află un orificiu permanent deschis. Sub aceste celule se găsește o cameră acviferă, înconjurată de un parenchim acvifer denumit epitem, la care pereții celulari sunt subțiri, iar spațiile intercelulare sunt pline cu apă. Epitemul se află în contact cu terminațiile vaselor lemnoase. Mărimea acestora, structura și abundența variază considerabil cu specia. Ocluziunea externă a porilor pentru apă din hidatode este componenta de rezistență asociată cu absența gutației la frunzele bătrâne, la căpșun (Takeda și al. (1991).

<u>*Lichidul eliminat nu este o apă pură*</u>, ci este o soluție diluată (0,1- 0,9%), care conține cantități mici de săruri minerale (mai ales calciu), glucide, azotați etc. O dovadă în plus la acest argument sunt rezultatele experimentelor efectuate de French și al. (1993), care au descoperit prezența în lichidul de gutație a virusului mozaicului tomatelor (ToMV), la plantele infectate sistemic și vizualizate prin microscopie electronică. Concentrația ToMV a fost de 0,9 +/- 0,2 micrograme / ml. Existența virusului transmisibil în fluidul de gutație poate reprezenta un factor important al răspândirii virusurilor plantelor la culturile din seră. Mai mult decât atât, studiile privind efectele vârstei frunzelor asupra gutației și a caracteristicilor hidatodelor asupra dezvoltării

simptomelor date de *Didymella bryonie* (Anersw.) Rehm. la *Cucumis sativum*, în vederea dezvoltării metodelor de selecţie a germoplasmei, au demonstrat prin teste de seră şi câmp, faptul că susceptibilitatea a crescut odată cu intensificarea gutaţiei. Plantele cu o gutaţie intensă au fost mai susceptibile, decât plantele la care gutaţia a fost absentă. Umiditatea filoplanului şi/sau nutriţia au fost mai importante în procesul infecţiei, decât deschiderea ostiolelor stomatelor. Concluzia a fost aceea că, deşi importantă, gutaţia nu a fost necesară infecţiei (Amand şi Wehner, 1995).

Mult timp s-a considerat că lichidul de gutaţie conţine în principal ioni minerali şi că hidatodele sunt structuri secretoare. Cercetările recente sugerează faptul că hidatodele sunt mult mai complexe şi că sunt capabile de biosinteza proteinelor (filoproteine) care reprezintă componente ale sistemului defensiv. Suprafaţa frunzei reprezentă o frontieră biologică (Shepherd şi Wagner, 2007) (*fig. 4.24.*).

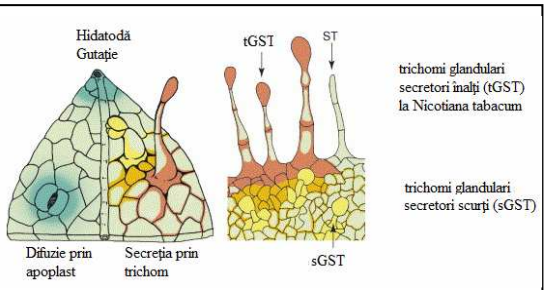


Fig. 4.24. Diferite căi prin care pot fi secretate şi depozitate proteinele filoplanului

Întrebări

1. Definiţi regimul de apă al plantelor.
2. Care este rolul apei în viaţa plantei ?
3. Explicaţi mecanismul absorbţiei apei prin rădăcină.
4. Care sunt factorii care influenţează absorbţia şi cum intervin aceştia ?
5. Care sunt căile de transport a apei în plante ?
6. Explicaţi mecanismul TACT, cu privire la transportul apei prin xilem.
7. Transpiraţia: definiţie, importanţă, organ specializat.
8. Explicaţi mecanismul de deschidere şi închidere a stomatelor.
9. Bilanţul hidric: definiţie, valori, semnificaţie.
10. Gutaţia: definiţie, importanţă.

Bibliografie selectivă

Assmann, S.M. şi Shimazaki, K.I. 1999. The multisensory guard cell. Stomatal Responses to blue light and abscisic acid. Plant Physiology, Vol. 119: 809- 816.

Boucher, J.F., Munson, A.D., Bernier, P.Y. 1995. Foliar absorbtion of dew influences shoot water potential and root growth in *Pinus strobus* seedling. Tree Physiology, Vol. 15: 819-823.

Furuichi, T. şi al. 2008. Mechano-sensitive channels regulate the stomatal aperture in *Vicia faba*. Biochemical and Biophysical Research Communications, Vol. 366: 758- 762.

Limm, E.B., Simonin, K.A., Bothman, A.G., Dawson, T.E. Foliar water uptake: a common water aquisition strategy for plant of redwood forest. Oecologia, Vol. 161. 449-459.

Pandey, S. şi al. 2007. Roles of ion channels and transporter in guard cell signal transduction. FEBS Letters, Vol. 581: 2325- 2336.

Saadu, R.O., Abdulrahaman, A.A., Oladele, F.A. 2009. Stomatal complex types and transpiration rates in some tropical species. African Journal of Plant Science, Vol. 3: 107-112.

Săvulescu Elena, I. Săvulescu, Mihaela Ioana Georgescu, Elena Delian – Morphological changes induced by the water deficit on soyben leaves-*Glycine max* L. Merr. Anales of the University of Craiova, Vol. III (XLIV), p: 275-278, 2003.

Shen, F.Y. şi al. 2008. Possible causes for embolism repair in xylem. Environmental and Experimental Botany, Vol. 62: 139- 144.

Shimazaki, K.I. şi al. 2007. Light regulation of stomatal movement. Annual Review of Plant Biology, ol. 58: 219- 247.

CAPITOLUL 5

FIZIOLOGIA NUTRIŢIEI MINERALE

Cuvinte cheie: *rizosferă,semnalizare moleculară, element mineral esenţial şi util, soluţie nutritivă, fitosiderofori, micorize, simbioze rhizobiale şi actinorhizale*

Obiective:
● cunoaşterea rolului fiziologic al elementelor minerale esenţiale şi utile în viaţa plantelor;
● înţelegerea diferitelor moduri de clasificare a elementelor minerale;
● enumerarea metodelor de studiu şi descrierea metodei fiziologice;
● cunoaşterea interrelațiilor sol – plantă - microorganisme şi a semnalizării moleculare la nivelul rizosferei;
● înţelegerea relaţiei dintre deficienţe şi mobilitatea elementelor în plante etc.;
● descrierea proceselor de absorbţie, transport şi utilizare a elementelor minerale în plante;
● descrierea adaptărilor sistemului radicular pentru favorizarea absorbţiei şi importanţa practică a acestora;

REZUMAT

Pentru desfăşurarea proceselor de creştere şi dezvoltare, plantele au nevoie pe lângă apă şi de substanţe minerale, pe care le preiau din mediul înconjurător. Aprovizionarea plantelor cu substanţe minerale este cunoscută sub denumirea de nutriţie minerală. Înţelegerea modului în care plantele obţin elementele minerale, cum le distribuie, cum le metabolizează şi cum le utilizează pentru creşterea şi dezvoltarea lor reprezintă o componentă de bază a fiziologiei plantelor, cu un impact deosebit asupra întocmirii programelor optime de fertilizare a culturilor. Unele elemente minerale sunt considerate esenţiale, altele sunt catalogate ca elemente utile. Există diferite criterii de clasificare a elementelor minerale, dar, în funcţie de rolul lor fiziologic sunt elemente cu rol de structură (sau rol plastic) şi elemente cu rol în activarea unor enzime (rol catalitic). Studiul nutriţiei minerale se poate realiza prin diferite metode, dar, o metodă specifică fiziologiei este creşterea plantelor pe soluţii nutritive minerale artificiale. Din punct de vedere ştiinţific, metoda permite efectuarea de studii privind rolul fiziologic specific al elementelor minerale, precum şi cunoaşterea efectelor carenţei sau excesului acestora asupra creşterii şi dezvoltării plantelor. Din punct de vedere practic, metoda se poate utiliza pentru cultivarea plantelor, apelând la diferite tehnici de cultură. Având în vedere că plantele absorb elementele minerale în principal din sol, prin intermediul sistemului radicular, rizosfera şi semnalizarea moleculară la acest nivel are o importanţă deosebită. Totodată, interacţiunile sol – rădăcini - microorganisme şi adaptările sistemului radicular prin relaţiile de simbioză reciproc avantajoasă cu unele ciuperci (micorizele) şi unele bacterii (simbiozele rhizobiale şi actinorhizale) favorizează procesele de absorbţie a apei şi substanţelor minerale.

5.1. Rolul fiziologic general şi criterii de clasificare a elementelor minerale

Elemente minerale esenţiale şi elemente minerale neesenţiale pentru plante

Pentru creşterea şi dezvoltarea plantelor, pe lângă C, H şi O, care reprezintă circa 98% din masa proaspătă a unei plante, sunt necesare cel puţin alte 13 elemente chimice, denumite nutrienţi anorganici esenţiali. Termenul de **element mineral esenţial sau absolut necesar** a fost introdus de Arnon şi Stout (1939). Autorii au concluzionat că pentru ca un element mineral să fie considerat esenţial, trebuie să îndeplinească trei criterii:

1 ► o plantă dată nu trebuie să fie capabilă să-şi completeze ciclul său de viaţă, în absenţa elementului respectiv;

2 ► funcţia elementului mineral nu trebuie să fie înlocuită de un alt element mineral;

3 ► elementul mineral trebuie să fie direct implicat în metabolismul plantei.

După Epstein (1972), elementele minerale sunt considerate ca esenţiale sau neesenţiale pentru plante, pe baza a **două criterii principale**.

În primul rând, un element mineral este considerat ca esenţial pentru plante, dacă planta nu-şi poate desfăşura întregul său ciclu de viaţă, în lipsa acelui element. *În al doilea rând*, se consideră ca fiind esenţial acel element mineral care se constituie parte a unei molecule sau constituent al plantei, care la rândul său este indispensabil plantei. După alţi cercetători, mai poate fi luat în considerare şi un *al treilea criteriu*, respectiv, un element este esenţial dacă acţionează direct în plantă şi nu influenţează un alt element (în sensul de a-l face mai disponibil, sau dimpotrivă de a acţiona antagonist).

Un **element mineral util sau neesenţial** este considerat acela care nu intervine în mod direct în metabolismul plantei, dar are efecte benefice. Spre exemplu, siliciul este un element util plantelor. El are un efect favorabil asupra rezistenţei plantelor la boli şi dăunători, de asemenea, prezenţa sa face ca plantele să devină mai rezistente la cădere (fiind depozitat în pereţii celulari, mai ales la *Equisetaceae*, *Gramineae*).

Criterii de clasificare a elementelor minerale

Clasificarea elementelor minerale se poate realiza după *diferite criterii*:

- după cantitatea necesară sau prezentă în ţesutul vegetal;
- după nevoia metabolică pentru elementul nutritiv;
- după funcţia sau funcţiile biochimice ale elementului nutritiv;
- după mobilitatea sa în plantă etc.

Prin urmare, în lucrările de specialitate se regăsesc diferite clasificări, dar, pentru majoritatea plantelor superioare, elementele minerale esenţiale sunt considerate ca fiind reprezentate de:

I. ***macroelemente*** (necesare în concentraţii de 1000 mg/kg substanţă uscată), precum C, H, O – provenite din aer şi apă; N, P, K (*primare*, provenite din sol); Ca, Mg, S (*secundare*, provenite din sol);

II. *microelemente* (provenite din sol) (necesare în ţesuturile plantelor în concentraţii egale sau mai mici decât 100 mg/kg substanţă uscată), ca de exemplu B, Fe, Mn, Zn, Mo, Cl, Cu, Ni (*tabelul 5.1*.)

Aspecte generale privind rolul fiziologic al elementelor minerale

Din punct de vedere a funcţiilor îndeplinite, elementele minerale sunt clasificate uneori în două grupe:

►elemente cu rol de structură a unui compus important (rol plastic, de constituţie);

► elemente cu rol în activarea unor enzime (rol catalitic).

Nu se poate face o distincţie netă a acestor funcţii. Spre exemplu, magneziul are atât rol structural, intrând în alcătuirea moleculei de clorofilă, cât şi rol de activare a unor enzime. Microelementele sunt în principal activatori ai unor enzime. Ele sunt necesare în cantităţi mici şi multe dintre acestea sunt toxice în concentraţii mari în celule. Ca urmare, plantele au dezvoltat un set de mecanisme pentru ajustarea concentraţiei elementelor minerale, la cerinţele fiziologice şi structurale ale celulei (Giegl şi al. (2009).

Sub formă solubilă, toate elementele minerale manifestă şi o altă funcţie, respectiv contribuie la reglarea potenţialului osmotic celular.

Tabelul 5.1.

Elementele esenţiale pentru plantele superioare şi concentraţiile adecvate (modificat după Brown şi al., 1987).

Elementul	**Simbolul chimic**	**Forma disponibilă pentru plantă**	**Concentraţia în ţesut mg kg^{-1} substanţă uscată**
Carbon	C	CO_2	450000
Hidrogen	H	H_2O	60000
Oxigen	O	O_2, H_2O	450000
Azot	N	NO_3^-, NH_4^+	15000
Fosfor	P	$H_2PO_4^-$, HPO_4^{2-}	2000
Potasiu	K	K^+	10000
Calciu	Ca	Ca^{2+}	5000
Magneziu	Mg	Mg^{2+}	2000
Sulf	S	SO_4^{2-}	1000
Bor	B	H_3BO_3	20
Fier	Fe	Fe^{3+}, Fe^{2+}	100
Mangan	Mn	Mn^{2+}	50
Zinc	Zn	Zn^{2+}	20
Molibden	Mo	MoO_4^{2-}	0,1
Clor	Cl	Cl^-	100
Cupru	Cu	Cu^+, Cu^{2+}	6

Printre *principalele funcţii ale elementelor minerale* se pot aminti următoarele:

● intră în alcătuirea unor substanţe organo-minerale, care au rol plastic sau de constituţie (ex. azotul în proteine; fosforul în fosfolipide);

● intră în alcătuirea unor substanţe cu rol activ sau catalitic, precum enzimele: Mo şi Fe în nitrogenază etc.;

● intră în alcătuirea unor vitamine (ex. S în vitamina B_1);

● intră în alcătuirea unor pigmenţi (ex. N şi Mg în clorofilă);

● intră în alcătuirea substanţelor care fac parte din lanţul transportor de electroni, atât în cadrul procesului de respiraţie, cât şi de fotosinteză (ex. Fe în citocromi, Cu în plastocianină);

● participă la procesele de oxido-reducere, prin modificările de valenţă ale Fe, Cu etc.;

● reprezintă transportori pentru energia biochimică stocată în legăturile macroergice ale acidului adenozin trifosfat (ATP);

● participă la procesul de descompunere a apei prin fotoliză (Mn);

● stimulează procesul de creştere (N) şi procesul de respiraţie (N);

● stimulează sau inhibă activitatea unor enzime;

● reglează potenţialul bioelectric celular, potenţialul osmotic şi turgescenţa (în special K);

● participă la efectuarea unor mișcări (mișcarea stomatelor : K şi Cl; seismonastii – K) etc.

5.2. Metode de studiu a nutriţiei minerale a plantelor

În general, studiul nutriţiei minerale a plantelor se poate efectua prin:

► metode chimice (o variantă fiind diagnoza foliară), procedând la analiza frunzelor sau a peţiolilor şi astfel se determină nivelele de aprovizionare care pot determina simptome de carenţă sau de exces;

► *metode agronomice*, cuplate cu cele *agrochimice* (respectiv efectuarea de experienţe mono-factoriale sau poli-factoriale în casa de vegetaţie, ori în câmp);

► *metoda fiziologică* sau de creştere a plantelor pe soluţii nutritive minerale artificiale;

Se pot utiliza şi *alte mijloace*, precum studiile microscopice, analize spectrale, analiza ţesutului vegetal şi a solului etc.

Având în vedere faptul că solul este un mediu deosebit de complex, în jurul anilor 1860, trei fiziologi germani (W. Pfeffer, J. Sachs şi W. Knop) au recunoscut că este dificil a determina tipul şi cantitatea elementelor minerale esenţiale pentru creşterea plantelor. În consecinţă, ei au cultivat plantele cu rădăcinile într-o soluţie alcătuită din săruri minerale, cu o compoziţie chimică cunoscută şi posibil de controlat, aşa numita soluţie nutritivă. O astfel de creştere a plantelor reprezintă ceea ce se denumeşte *hidroponica - cultură fără sol* sau **cultura pe soluţie nutritivă.**

De asemenea, în ultimii ani s-au perfecţionat tehnicile de măsurare a concentraţiei elementelor minerale în plante, sol şi soluţii nutritive. Spre exemplu, sunt utilizate spectrometre cu absorbţie atomică pentru determinarea metalelor şi a unor nemetale. Mai eficiente sunt însă spectrometrele cu emisie optică, cu care spre exemplu se pot determina mai mult de 20 elemente într-o singură soluţie, în mai puţin de un minut, sau mass spectrometria cu plasmă (Bibak şi al., 1998).

5.2.1. Creşterea plantelor pe soluţii nutritive minerale artificiale - importanţă teoretică şi practică

Soluţiile nutritive minerale artificiale sunt amestecuri ale unor substanţe minerale dizolvate în apă, în cantităţi şi raporturi optime pentru creşterea şi dezvoltarea plantelor. S-au folosit numeroase reţete de soluţii nutritive, dintre care **mai veche şi mai simplă este soluţia Knop**, pregătită iniţial pentru hamei şi folosită apoi şi pentru alte specii. Însă, o soluţie ideală pentru o anumită specie este rareori potrivită pentru o altă specie. Ulterior, au fost îmbunătăţite reţetele de soluţii nutritive, iar câteva diferenţe dintre diferite soluţii se observă în *tabelul 5.2.*

Tabelul 5.2.

Reţete de soluţii minerale nutritive artificiale

Soluţia Hoagland şi Arnon		**Soluţia Evans**		**Soluţia Knop**	
Sarea	mM	Sarea	mM ppm	Sarea	g l^{-1}
KNO_3	6,0	$Ca(NO_3)_2.4H_2O$	5,0	KNO_3	0,25
$Ca(NO_3)_2.4H_2O$	4,0	K_2SO_4	2,5	$MgSO_4.7H_2O$	0.25
$NH_4H_2PO_4$	1,0	KH_2PO_4	0,5	$Ca(NO_3)_2$	1,0
$MgSO_4.7H_2O$	2,0	$MgSO_4.7H_2O$	2,0	KH_2PO_4	0,25
Fe-chelat		Fe-versenate	0,5 Fe	$Fe_3(PO_4)_2$	urme
$MnCl_2.4H_2O$	0,009	KCl	9,0 Cl		
H_3BO_3	0,046	$MnSO_4$	0,25 Mn		
$ZnSO_4.7H_2O$	0,0008	H_3BO_3	0,25 B		
$CuSO_4.5H_2O$	0,0003	$ZnSO_4.7H_2O$	0,25 Zn		
$H_2MoO_4.H_2O$	0,0001	$CuSO_4.5H_2O$	0,02 Cu		
		Na_2MoO_4	0,02 Mo		

Soluţia Knop conţine doar 7 elemente minerale, dar substanţele utilizate fiind impure au asigurat şi alte elemente. Important în cazul acestora este faptul că *soluţia Evans* conţine *azotul sub formă de nitrat*, dar având în vedere faptul că nitratul este absorbit foarte repede, se induce o creştere a pH-ului soluţiei (deoarece absorbţia nitratului şi a altor anioni este însoţită de absorbţia H^+ sau eliminarea OH^- pentru menţinerea echilibrului sarcinilor electrice). În condiţiile unui pH mărit, fierul şi alte elemente precipită ca hidro-peroxizi şi astfel devin indisponibile rădăcinilor plantelor. Inconvenientele date de modificările pH-ului pot fi reduse prin asigurarea unei părţi din *azot sub formă de săruri de amoniu* (ex. $NH_4H_2PO_4$, precum în *soluţia Hoagland*), deoarece absorbţia NH_4 şi a altor cationi se realizează simultan cu absorbţia OH^- sau transferul H^+ din

rădăcină în soluţia nutritivă. Recent, hidroponica a fost utilizată inclusiv pentru studiul răspunsului plantelor de tomate la aplicarea unui stimulent de micorizare (Cwala şi al., 2010).

● ***Agenţii de chelatare***

Cationii de tipul Fe şi în măsură mai mică Zn, Mn, Cu sunt relativ insolubili în soluţii nutritive, atunci când sunt asiguraţi sub forma unor săruri anorganice comune. Aceasta se întâmplă mai ales în condiţiile unui pH situat peste 5. În astfel de situaţii, cationii micro - nutrienţi reacţionează cu ionii hidroxil şi eventual precipită cu formare de oxizi metalici insolubili. Prin urmare, în vederea menţinerii lor în soluţie se foloseşte un agent chelatant sau chelator. Prin reacţia Fe bivalent sau trivalent cu un chelatant se formează un *chelat.* Acesta este un produs solubil, format când anumiţi cationi dintr-un ligant organic donează electroni cationului. Spre exemplu, deficienţa în Fe caracterizată prin cloroză este răspândită mai ales la plante cultivate pe soluri calcaroase şi poate fi eliminată sau redusă prin aplicarea la sol sau pe frunze a Fe sub formă de chelat comercial numit Fe-EDDHA (Fe-etilen-diamin-di-hidroxifenil acetic acid), comercializat sub denumirea Sequestrene. Un alt chelat pentru Fe este Fe-EDTA (Fe-etilen-diamin-tetraacetic acid) (Versenate), dar acesta chelatează şi Ca^{2+} şi nu este eficient în soluri calcaroase.

Sunt descrise *două tipuri de liganzi care chelatează Fe*:

- liganzi sintetizaţi de microorganisme;
- liganzi sintetizaţi de rădăcinile plantelor.

În privinţa absorbţiei Fe, la angiosperme s-au descris două strategii:

√ <u>strategia I</u> (*fig.5.1.*) - la dicotiledonate şi unele monocotiledonate, care implică eliberarea liganzilor tip fenol (ex. acidul cafeic). Aceştia chelatează Fe^{3+}, se deplasează către suprafaţa rădăcinii, unde este redus la Fe^{2+} încă chelatat fiind. Simultan, rădăcinile plantelor formează agenţi reducători rapid (ex. NADPH), care desfăşoară reducerea. Prin reducere, se eliberează Fe^{2+} din ligand şi Fe^{2+} este absorbit imediat.

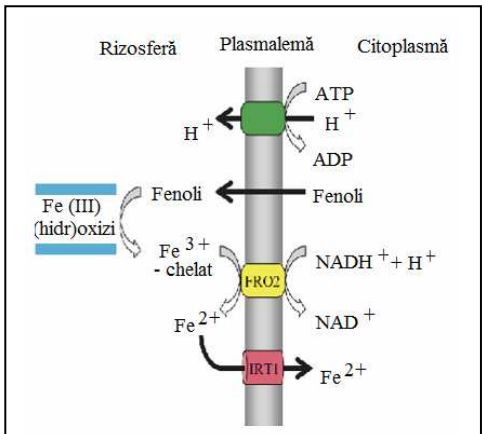


Fig. 5.1. Strategia I la dicotiledonate

√ <u>strategia II</u> (*fig.5.2.*) - caracteristică numai ierboaselor, inclusiv cereale. Acestea răspund deficienţei în Fe prin formarea şi eliberarea liganzilor care chelatează puternic Fe^{3+}. Aceşti liganzi se numesc *siderofori sau fitosiderofori* (ex. acidul avenic, acidul mugineic). Sideroforii sunt absorbiţi cu fier cu tot şi apoi reduc fierul conţinut la Fe^{2+} şi probabil imediat Fe $^{2+}$ este eliberat şi folosit de plantă. Sideroforul este fie biodegradat, fie este eliberat din nou pentru a transporta alt Fe.

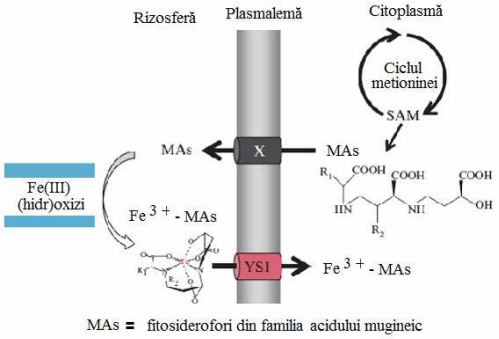


Fig.5.2. Strategia II la plante graminee

Ingineria genetică şi amelioratorii trebuie să-şi concentreze eforturile în cazul cerealelor, pentru descoperirea genelor care controlează formarea sideroforilor, ca măsură pentru ameliorarea creşterii plantelor pe solurile calcaroase.

În ciuda numeroaselor avantaje referitoare la studiul nutriţiei minerale, ***din punct de vedere practic***, al tehnicii de cultivare pe astfel de soluţii, *intervin şi unele dezavantaje.* Astfel, se impune aerarea soluţiilor, precum şi controlul compoziţiei acestora. Se procedează la înlocuiri şi suplimentări la anumite intervale de timp, având în vedere modificările care intervin, urmare a absorbţiei mai rapide a unor ioni, comparativ cu alţii. De asemenea, ca urmare a absorbţiei selective

sunt induse modificări de pH. Drept consecinţă, în sere se practică în cazul culturilor fără sol, pomparea unor astfel de soluţii cu pH şi compoziţie monitorizate şi corectate automat, din rezervoare speciale (tehnica filmului nutritiv). În privinţa concentraţiei soluţiei, aceasta trebuie menţinută la valori apropiate celei specifice soluţiei solului, deci la valori suficient de mici, pentru a evita fenomenul de plasmoliză la nivelul celulelor rădăcinii.

Dacă pentru studii privind absorbţia ionilor de către rădăcini, cultura pe soluţii nutritive este metoda adecvată, în cazul cultivării, poate fi folosit nisip de cuarţ spălat sau perlit, urmând ca soluţia să fie turnată sau picurată în cantităţi în exces şi la intervale adecvate de timp. De altfel, există alte diferite tehnici bazate pe utilizarea soluţiilor nutritive (ex. tehnica filmului nutritiv etc.).

5.2.2. Analiza stării de nutriţie a plantei

Deşi simptomele de diagnostic vizual sunt mijloace extrem de rapide pentru evaluarea stării de nutriţie a plantei, ele nu constituie singurele mijloace disponibile. Se pot utiliza şi alte mijloace, precum studiile microscopice, analize spectrale, analiza ţesutului vegetal şi solului etc.. Fiecare dintre aceste metode prezintă particularităţi în ceea ce priveşte precizia, rapiditatea şi capacitatea de a prevedea statusul nutriţional viitor.

În vederea întocmirii programelor de fertilizare a plantelor este deosebit de important a se estima asigurarea cu elemente minerale pentru plante, precum şi conţinutul în elemente minerale al plantelor crescute în anumite condiţii de sol. În acest scop se recurge la analiza chimică a solului, precum şi la analiza ţesutului plantei. Astfel de date coroborate cu rezultatele experimentelor de câmp fac posibile recomandări adecvate pentru o fertilizare corespunzătoare, aşa cum de altfel au demonstrat şi rezultatele obţinute de Rashid (1995). În *figura 5.3.* este redată relaţia dintre valorile obţinute în cazul studiilor privind producţia sau creşterea plantei (% din maximum) şi concentraţia unui element nutritiv în ţesutul vegetal.

De remarcat faptul că, la un conţinut mic într-un anume element, creşterea plantei este redusă. Pe măsură ce creşte concentraţia elementului mineral în ţesutul vegetal, se înregistrează şi o sporire a producţiei, dar până la o anumită concentraţie, de la care creşterea producţiei nu se mai corelează cu creşterea concentraţiei elementului mineral respectiv. Acea regiune se denumeşte **zona adecvată**. Zona sau punctul de tranziţie dintre deficienţă şi zona adecvată reprezintă *concentraţia critică a elementului studiat*. Prin urmare, acel punct reprezintă conţinutul minim din acel element, care se corelează cu creşterea sau producţia maximă. După depăşirea zonei adecvate, dacă creşte conţinutul ţesutului în elementul analizat, creşterea plantei şi producţia încep să scadă, ca urmare a toxicităţii. Astfel de date se pot obţine prin creşterea plantelor pe soluţii nutritiv complete (care conţin cantităţi adecvate de elemente minerale) şi incomplete (care conţin toate elementele necesare, cu excepţia elementului luat în studiu).

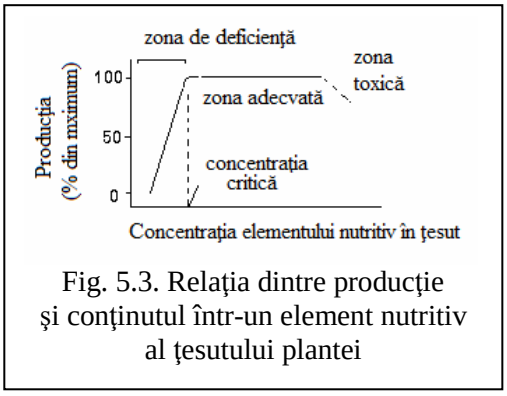


Fig. 5.3. Relaţia dintre producţie şi conţinutul într-un element nutritiv al ţesutului plantei

Studiile privind efectele N, P şi K, la unele specii floricole precum impatiens (*Impatiens wallerana* Hook), petunia (*Petunia * hybrida* Hort. Vilm.-Andr.), salvia (*Salvia splendens* F.Sellow ex Roem and Schult.) şi vinca (*Catharanthus roseus* L.) au demonstrat faptul că, concentraţia N din partea aeriană a plantelor s-a corelat linear cu masa uscată a părţii aeriene a plantulelor la transplantare. Concentraţia P şi K din soluţia nutritivă utilizată în experiment, sau din ţesuturile părţii aeriene nu a avut sau a avut un efect redus asupra creşterii plantulelor. Dar, creşterea concentraţiei P în tulpină a fost în relaţie cu creşterea concentraţiei P în soluţia nutritivă. Salvia a fost singura specie care a prezentat un consum mare de K. Prin urmare, creşterea acestor specii este determinată în principal de azot, către care ar trebui direcţionate programele de fertilizare, în timp ce aplicarea P şi K poate fi redusă (Van-Jesel şi al., 1998).

În ceea ce priveşte tipul de ţesut reprezentativ pentru astfel de studii, cercetările au demonstrat că în general, modificările nutriţionale sunt corelate cu **starea nutriţională a frunzelor**.

Ca urmare, s-a dovedit că analiza frunzelor poate constitui un indicator mai potrivit al carenţelor de nutriţie, comparativ cu simptomele morfologice descrise în literatura de specialitate.

5.3. Absorbţia, transportul şi utilizarea substanţelor minerale de către plante

Absorbţia substanţelor minerale se realizează în principal *prin intermediul sistemului radicular*, dar într-o mică proporţie are loc *şi* absorbţia prin organele aeriene (*absorbţia extra-radiculară).*

Substanţele sunt absorbite în stare dizolvată în apă, sub formă de ioni, fiind apoi transportate odată cu apa, pe cale extra-fasciculară, de la celulă, la celulă, pe distanţe mici şi prin ţesuturile specializate de transport, pe distanţe mari (prin xilem, şi respectiv prin floem – re-translocare).

5.3.1. Semnalizările moleculare la nivelul rizosferei: interacţiunile sol – rădăcini - microorganisme

Procesele de creştere şi dezvoltare ale plantelor se află sub controlul unor semnale interne, care depind de asigurarea în cantităţi adecvate a elementelor minerale din sol, către rădăcini.

Solul din jurul rădăcinilor plantelor poate fi considerat *ca un material eterogen, complex, alcătuit dintr-o fază solidă, o fază lichidă şi o fază gazoasă.*

Fiecare fază are la rândul său un rol important în asigurarea elementelor minerale pentru sistemul radicular. Particulele anorganice ale fazei solide reprezintă un rezervor de nutrienţi, precum potasiu, calciu, magneziu şi fier. Totodată, asociat fazei solide sunt particulele organice care conţin azot, fosfor şi sulf. Faza lichidă este reprezentată de soluţia solului, în care sunt dizolvaţi ioni minerali şi constituie un mediu propice pentru deplasarea acestora către suprafaţa rădăcinii.

În soluţia solului sunt de asemenea dizolvate gaze (CO_2 şi O_2). Asigurarea oxigenului în fază gazoasă este absolut necesară pentru desfăşurarea respiraţiei rădăcinii şi respectiv pentru asigurarea energiei metabolice necesară pentru efectuarea transportului transmembranal pe cale activă.

Plantele preiau cele mai multe elemente minerale din zona rizosferei.

Rizosfera este de departe un mediu mai complex din punct de vedere fizic, chimic şi biologic, decât mediul de deasupra solului, din jurul părţii aeriene.

Deplasarea energiei sau materiei, rapid, pe distanţe mari este limitată de amestecul fazelor solid, lichid şi gaz în subteran. De asemenea, un rol important revine modificărilor extreme ale compoziţiei chimice în decurs de minute şi a spaţiilor de milimetri, precum şi densităţii şi diversităţii organismelor în sol (Rost şi Bloom, 2006). Această zonă reprezintă un mediu ecologic foarte favorabil microorganismelor, iar la majoritatea plantelor microflora rizosferei este specifică.

Înţelegerea proceselor semnalizării moleculare şi a funcţiilor care sunt reglate la nivelul rizosferei va juca un rol central în promovarea coexistenţei benefice plantă-microorganisme, în depăşirea limitelor existente şi stabilirea strategiilor pentru asigurarea de noi inoculanţi, cu aplicaţii în cadrul biotehnologiilor sustenabile (Ahmad şi al., 2008; Hause şi Schaarschmidt, 2009). Există numeroase şi complexe *exudate* ale rădăcinilor (*tabelul 5.3*.) (Dakora şi Phillips (2002). Acestea nu constituie doar o sursă de substrat cu carbon pentru creşterea microorganismelor, ci şi molecule semnal, care promovează chemotaxia microorganismelor din sol, către rizosferă.

Tabelul 5.3.

Compuşi organici şi enzime identificate în exudatele rădăcinilor a diferite specii de plante

Amino-acizi	Acizi organici	Glucide	Vitamine	Proteine/ Nucleozide	Enzime
α-alanina	Citric	Glucoză	Biotină	Adenină	Fosfataza
β-Alanina	Oxalic	Fructoză	Tiamină	Guanină	Acid/ Alcalina
Asparagina	Malic	Galactoză	Niacină	Citidină	Invertaza
Aspartat	Fumaric	Maltoză	Pantoten	Uridină	Amilaza
Cisteină	Succinic	Riboză	Riboflavină		Proteaza
Cistină	Acetic	Xiloză			
Glutamină	Butiric	Rhamnoză			
Glicină	Valeric	Arabinoză			
Izoleucină	Glicolic	Rafinoză			
Leucină	Formic	Dezoxiriboză			
Lizină	Aconitic	Oligozaharide			
Metionină	Lactic				
Serină	Piruvic				
Prolină	Malonic				
Valină	Aldonic				
Triptofan					
Ornitină					
Histidină					
Arginină					
Fenilalanină					
Acid γ-aminobutiric					
Acid α-aminobutiric					

Concentraţia aminoacizilor în rizosferă reprezintă un rezultat al fluxurilor dintre rădăcini, sol şi plante, fără a se cunoaşte cu exactitate efluxul şi influxul acestora în cadrul proceselor de exudare. Măsurătorile efectuate la plante precum: trifoiul alb (*Trifolium repens* L.), porumb (*Zea mays* L.), rapiţă (*Brassica napus* L.), tomate (*Lycopersicon esculentum* Mill.) şi lucernă (*Medicago sativa* L.) în privinţa glicinei sau serinei au demonstrat că efluxul glicinei a depăşit influxul, pentru toate aceste specii şi a fost mult mai mare la *Fabaceae*, decât la *Poaceae*. Efluxul serinei a depăşit influxul la lucernă, trifoi alb şi rapiţă. Concluzia a fost că prezenţa glicinei şi serinei în soluţia din jurul rădăcinilor este un rezultat al ratelor mari de eflux a glicinei şi serinei, cu efecte fiziologice şi ecologice în privinţa interacţiunii plantă –sol - microorganisme (Fabien şi al., 2007).

Există o comunicare chimică între rădăcinile plantelor şi alte organisme din rizosferă (Badri şi al., 2009; Hause şi Schaarschmidt, 2009) (*fig.5.4.*). Plantele secretă diferiţi compuşi, precum glucide şi aminoacizi, care atrag prin chemotaxie microorganismele (1). Flavonoizii, care reprezintă molecule semnal sunt implicaţi în iniţierea simbiozelor de tip micorhizal (2), rhizobial (3) şi cu fungi ne-patogeni (oomicete) (4). Acizii alifatici sunt implicaţi în recrutarea rizobacteriilor care promovează creşterea (*Bacillus subtilis*) (5). Nematozii secretă substanţe regulatoare de creştere (citochinine) implicate în stabilirea locului de hrănire la nivelul rădăcinii (6). De asemenea, nematozii secretă alţi compuşi (acizi organici, aminoacizi, glucide) implicaţi în atragerea bacteriilor şi realizarea BQS (7). Funcţiile altor substanţe secretate de rădăcini, precum acizii graşi (8), proteine (9), cât şi alte interacţiuni (10) rămân încă necunoscute.

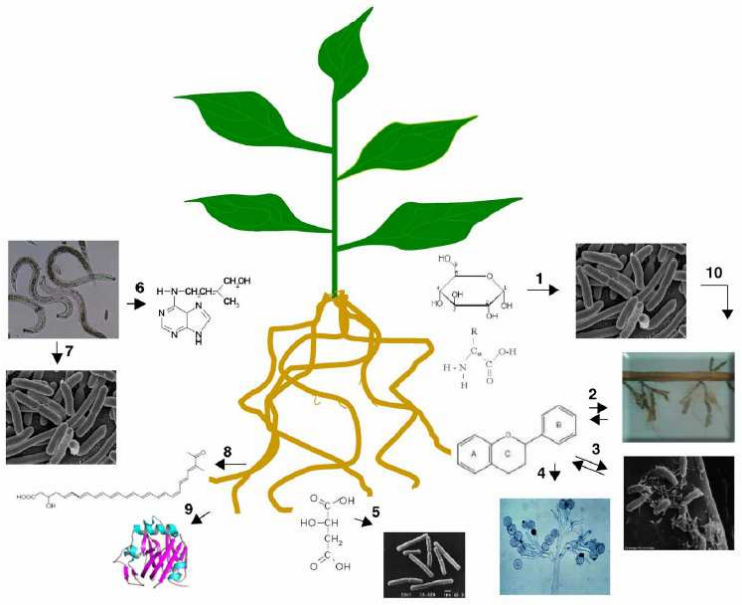


Fig. 5.4. Semnalizarea chimică la nivelul rizosferei

Pe lângă faptul că respectivele substanţe servesc ca semnale chemotactice şi promotori ai creşterii bacteriilor la nivelul rizosferei, exudatele controlează de asemenea nutriţia cu azot în cazul simbiozelor cu leguminoase. Plantele utilizează moleculele flavonoide din exudatele rădăcinii, pentru a induce transcripţia genelor nodulării (nod) în rizobii, ceea ce permite formarea nodulilor şi fixarea N_2.

Fenolii au de asemenea un rol deosebit în solubilizarea Fe, P şi alţi nutrienţi, din cadrul surselor nedisponibile. Astfel, în cazul deficienţelor de Fe, în special dicotiledonatele eliberează molecule fenolice, care influenţează mobilitatea Fe şi P. În cazul plantelor de lucernă cu carenţe de Fe are loc eliberarea unui izoflavonoid de tip fitoalexină, care dizolvă intens fosfatul feric. Aceasta face Fe şi P disponibil pentru plantă şi totodată serveşte ca fitoalexină împotriva infecţiei cu agenţi patogeni. Pe de altă parte, plantele cu suficient Fe produc exudate ale rădăcinii, cu caracteristici limitate în ce priveşte capacitatea de dizolvare a fosfatului feric. La tomate cu deficienţe de Fe are loc exudarea acidului cafeic, cu scopul solubilizării Fe din surse insolubile de Fe. Astfel de compuşi fenolici permit disponibilizarea Fe şi P, prin formarea unor compuşi relativ stabili, aşa numiţii chelaţi cu Fe şi Al. Se permite astfel solubilizarea Fe şi P, în vederea absorbţiei de către plante.

O strategie şi mai eficientă utilizată de plantele ierboase deficiente în Fe este eliberarea *fitosideroforilor*, substanţe capabile să solubilizeze compuşii cu Fe. Ueno şi Ma (2009) au precizat că la gramineele perene, secreţia acestora este controlată de temperatura din jurul rădăcinii şi nu de lumină. La unele plante, sinteza şi eliberarea acizilor organici reprezintă un mecanism pentru detoxifierea excesului de Al intern şi extern, pe calea chelatării Al activ într-o formă non-fitotoxică.

O altă acţiune a acizilor organici exudaţi este cea de acidifiere a rizosferei. În general, creşterea rădăcinilor este favorizată de un **pH** uşor acid (5,5-6,5), iar activitatea microorganismelor diferă în funcţie de aciditatea solului. La un pH acid predomină ciupercile, iar la un pH cu valori mari predomină bacteriile. De asemenea, disponibilitatea ionilor depinde de valorile pH-ului, respectiv la valori mici ale pH-ului este favorizată eliberarea ionilor K^+, Mg^{2+}, Ca^{2+}. La astfel de valori, sărurile de carbonaţi, sulfaţi şi fosfaţi sunt mai solubile, ceea ce favorizează absorbţia lor de către rădăcini. Ploile şi descompunerea materiei organice din sol contribuie de asemenea la scăderea pH-ului. În cazul regiunilor aride, distrugerea rocilor poate provoca eliberarea elementelor minerale, care acţionează ca baze în sol, iar valoarea pH-ului creşte. Prin urmare, modificările pH-ului solului poate avea implicaţii mari asupra unor procese din sol, precum structura solului, disponibilitatea elementelor minerale şi spălarea elementelor. Efectul imediat poate fi favorabil pentru unele plante, mai ales pentru cele care iubesc aciditatea, tinzându-se a se face fierul mai disponibil. Pe termen lung însă, pH-ul scăzut poate fi nefavorabil plantelor, iar disponibilitatea nutrienţilor se va modifica. Un pH mai scăzut va permite micronutrienţilor să fie mai uşor spălaţi din profilul solului, rezultând spre exemplu carenţe în ceea ce priveşte nutriţia cu Zn şi Cu. De asemenea, la un pH cu mult sub 5 poate creşte solubilitatea pentru Al şi Mn, ceea ce conduce la toxicitate pentru multe plante.Un rol important îl reprezintă de asemenea eliminarea de substanţe alelopatice la nivelul sistemului radicular (ex. juglona la nuc).

5.3.2. Absorbţia substanţelor minerale prin rădăcină, transportul şi acumularea ionilor minerali în plantă

5.3.2.1. Absorbția substanţelor minerale prin rădăcină

Rădăcina este organul specializat funcţional pentru absorbţia substanţelor minerale şi a apei din sol. Sunt absorbite sărurile minerale în stare dizolvată şi sub formă de ioni, existente în soluţia solului, cât şi direct de pe suprafaţa particulelor de sol.

Din soluţia solului, *deplasarea ionilor minerali către suprafaţa rădăcinii* poate avea loc printr-un curent de masă şi prin difuziune, în strânsă interrelaţie cu viteza de transport a apei în plantă, precum şi cu cantitatea de nutrienţi din soluţia solului. Solul conţine macro -nutrienţi în soluţii foarte diluate (10^{-6} – 10^{-3} M). În condiţiile unei rate mari a curentului apei şi a unei concentraţii mari de elemente minerale în soluţia solului, curentul de masă poate juca rolul predominant în asigurarea rădăcinii cu nutrienţi.

Absorbţia elementelor minerale implică parcurgerea următoarelor etape:

- deplasarea ionilor din sol, către suprafaţa rădăcinii;
- absorbţia ionilor în celulele rădăcinii;
- deplasarea radială a ionilor de la suprafaţa rădăcinii către xilem;
- translocarea ionilor din rădăcină, către părţile aeriene (Epstein, 1972).

Dacă se realizează absorbţia ionilor minerali prin intermediul rădăcinii, scade concentraţia la suprafaţa sistemului radicular, se generează un gradient de concentraţie în soluţia solului din jurul rădăcinii, iar prin difuziune sporeşte disponibilitatea ionilor la suprafaţa rădăcinii.

Absorbţia ionilor minerali în plante se poate realiza şi prin schimb de ioni. Astfel, particulele de sol (anorganice şi organice) au la suprafaţa lor sarcini electrice negative, ceea ce prezintă importanţă în *adsorbţia* cationilor minerali. Aceştia nu sunt spălaţi uşor de către apă şi se constituie ca un rezervor de nutrienţi. Nutrienţii minerali adsorbiţi astfel pot fi înlocuiţi cu alţi cationi, iar procesul se denumeşte schimb cationic (*fig. 5.5.*). Gradul în care un sol poate adsorbi şi schimba ioni se numeşte capacitate de schimb de cationi (specifică în funcţie de tipul de sol), iar o capacitate mare de schimb asigură în general o mai bună aprovizionare cu elemente minerale a plantelor.

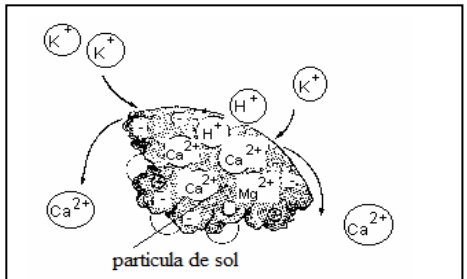


Fig. 5.5. Schimbul de cationi la suprafaţa particulei de sol

Spre deosebire de cationi, anionii rămân dizolvaţi în soluţia solului şi ca urmare, capacitatea de schimb de anioni a solurilor este foarte mică. Dintre anioni, cei mai solicitaţi sunt anionul nitrat şi clor. Pentru că ei nu sunt adsorbiţi, sunt predispuşi levigării, iar procesul are un impact negativ asupra apelor.

Ritmul de absorbţie a elementelor minerale este diferenţiat cu specia de plantă. În funcţie de consumul de substanţe nutritive, la plante se disting două momente de bază, de care se ţine seama în cadrul programelor de fertilizare:

- ► *momentul critic al nutriţiei;*
- ►*perioada de consum maxim.*

Momentul critic se defineşte ca fiind etapa, faza la care insuficienţa sau absenţa substanţelor minerale are o acţiune foarte nefavorabilă asupra creşterii şi dezvoltării ulterioare a plantelor.

Consumul maxim reprezintă etapa când plantele preiau din sol cea mai mare cantitate dintr-o anumită substanţă minerală.

În general, momentele critice apar în primele faze ale perioadei de vegetaţie, iar consumul maxim apare în faze mai târzii. La pomi şi viţa de vie, momentul critic şi consumul maxim se situează la mijlocul ciclului anual de vegetaţie. La specii legumicole, situaţia este diferită în funcţie de specie. Spre exemplu, se precizează că la ridichi consumul maxim de azot este în luna iunie, la tomate consumul maxim este la începutul lunii august, iar la varză la mijlocul lunii iulie.

5.3.2.2. Absorbţia substanţelor minerale prin organele aeriene

Plantele au capacitatea de a absorbi elementele minerale aplicate foliar, sub formă de soluţii. Fertilizarea foliară reprezintă de altfel o modalitate de fertilizare cu efect rapid, mai ales în perioada înfloritului şi a formării fructelor, în perioada de creştere intensă a plantelor, deci în perioade de consum maxim, ori în cazul în care se doreşte corectarea unor carenţe de nutriţie.

Astfel, în cazul azotului se recomandă aplicarea ureei (stropiri cu soluţii de concentraţie 4-5%) la specii pomicole după recoltarea fructelor, cu puţin timp înainte de căderea frunzelor. De asemenea, fosforul se aplică la pomii fructiferi şi la speciile legumicole. Potasiul dă rezultate bune la cartof şi pomi. Totodată, se recomandă aplicarea extra-radiculară a calciului, borului, molibdenului, în general a microelementelor, care sunt de altfel necesare în cantităţi mai mici, iar aplicarea la sol ar fi dezavantajoasă din mai multe considerente.

Aplicarea foliară a îngrăşămintelor se asociază administrării produselor fitofarmaceutice (pentru prevenirea şi combaterea bolilor şi dăunătorilor) sau a substanţelor cu rol de reglare a creşterii şi dezvoltării. Toate aceste tehnici contribuie la obţinerea unor producţii mai mari şi de calitate superioară.

5.3.2.3. Transportul, acumularea ionilor minerali în plante şi desorbţia substanţelor din plante

Ionii minerali odată absorbiţi în celulele rădăcinii pot fi metabolizaţi la acest nivel. De exemplu, ionii NO_3^- şi NH_4^+ pot fi folosiţi pentru sinteza aminoacizilor. Ionul SO_4^{2-} după reducere intră în compoziţia aminoacizilor cu sulf. *O mare parte însă* dintre ionii minerali circulă prin plasmodesme până la xilem, pentru *a fi transportaţi în plante*, iar o *altă parte* a ionilor sunt pompaţi activ din citoplasmă, în vacuolă, pentru a fi *depozitaţi la acest nivel.*

În plante, cea mai mare parte a ionilor minerali absorbiţi sunt integraţi în substanţe organice complexe, rezultate prin fotosinteză sau sinteză secundară. Astfel, azotul din nitraţi şi săruri cu amoniu intră în constituţia aminoacizilor, a substanţelor proteice; fosforul intră în acizii nucleici, în enzime, în substanţe care înmagazinează energie (ATP), în fosfolipide; sulful intră în aminoacizii cu sulf (cistină, cisteină, metionină). Potasiul se acumulează ca ion mineral liber. Totodată, elementele minerale pot trece în floem şi sunt astfel re-translocate în plante.

Experimentele au demonstrat că plantele excretă elemente minerale absorbite anterior şi aceasta se întâmplă mai ales către sfârşitul perioadei de vegetaţie. De asemenea, sunt eliminate substanţe organice (acizi, glucide, proteine, hormoni, enzime etc.). *Excreţia* substanţelor este dependentă de specie, precum şi de faza de vegetaţie. Leguminoasele excretă cel mai mult şi procesul se intensifică în general, după faza de înflorire. La sfârşitul perioadei de vegetaţie, plantele *desorb* cea mai mare cantitate de ioni minerali. Precipitaţiile de la sfârşitul perioadei de vegetaţie spală practic plantele, ceea ce reprezintă un proces nefavorabil (spre exemplu, pentru calitatea fructelor). Un rol important îl reprezintă eliminarea de substanţe alelopatice, la nivelul sistemului radicular (ex. juglona la nuc).

Un domeniu nou al biotehnologiei mediului este ***fitoremedierea,*** care implică acumularea de către plante a elementelor aflate în concentraţii mici, pentru a scoate poluanţii anorganici din mediu. În cadrul nutriţiei minerale a plantelor, atenţia este direcţionată către sporirea capacităţii plantelor de a acumula eficient elementele minerale din sol, atât cu scopul reducerii inputului de îngrăşăminte minerale în sistemul agricol, cât şi pentru reducerea bolilor la oameni, cauzate de deficienţe ale derivaţilor din plante, cu precădere micronutrienţi esenţiali: Fe, Zn, Se. De menţionat faptul că, plantele preiau din sol elemente precum: Cu, Fe, Mo, Mn, Ni, Se, Zn, elemente esenţiale, dar totodată potenţial toxice, dar plantele posedă mecanisme biochimice complexe pentru controlul lor.

Plantele au capacitatea de a prelua şi detoxifia elemente neesenţiale precum As, Cd, Cr şi Pb. Majoritatea plantelor crescute în soluri bogate în metale posedă mecanisme pentru excluderea celor potenţial toxice din tulpini, folosind sistemul radicular, fie pentru pomparea ionilor metalici înapoi în sol sau stocarea (sechestrarea) acestora în vacuolele celulelor rădăcinii etc.

5.4. Rolul fiziologic al principalelor elemente minerale şi dereglări fiziologice determinate de stresul nutriţional

Plantele au nevoie de azot, fosfor, potasiu, calciu, magneziu şi sulf în cantităţi relativ mari (>0,1% din masa uscată) şi fiecare dintre aceste elemente minerale denumite macronutrienţi sunt esențiale pentru completarea ciclului lor de viaţă. În ultimii ani, s-au înregistrat progrese în ceea ce privește mecanismele de absorbţie, transport şi distribuție, precum şi în legătură cu principalele lor funcţii fiziologice, aşa cum reliefează datele sintetice prezentate de Maathuis (2009).

În cazul unei aprovizionări necorespunzătoare cu un element mineral esenţial, *plantele manifestă simptome de deficienţă acută sau cronică specifice.* În literatura de specialitate sunt descrise de obicei deficienţele acute, iar cunoaşterea acestor simptome ajută pe cultivatori să determine când şi cum să aplice îngrăşăminte culturilor.

Simptomele vizuale ale carenţelor pot constitui mijloace de diagnostic pentru evaluarea statusului nutriţional al plantei, dar, un simptom vizual individual, rareori este suficient pentru o diagnoză definitivă. Multe simptome ale unor carenţe clasice, precum cloroze şi necroze sunt în mod caracteristic asociate cu alţi factori de stres, precum salinitate, patogeni, poluare a aerului etc. Există o serie de alte mijloace pentru diagnoză, precum studii microscopice, analiza spectrală, analiza țesutului vegetal, analiza solului etc.

Principalii factori de care depind simptomele carenţei într-un anume element sunt:

1) ►*rolul fiziologic specific al elementului respectiv;*
2) ►*gradul de mobilitate al acestuia* (dacă acel element este sau nu translocat din frunzele bătrâne, către frunzele tinere).

Un exemplu sugestiv al acţiunii ambilor factori este în cazul clorozei, cauzată de carenţa în magneziu. Se cunoaşte faptul că Mg este un component esenţial al clorofilei şi că în lipsa acestui element nu se formează clorofilă sau dacă el este în concentraţii mici, se produc cantităţi mici de clorofilă. La frunzele inferioare, mai bătrâne, cloroza este mai severă decât la frunzele mai tinere. Prin urmare, părţile tinere ale unei plante au o capacitate pronunţată de a prelua nutrienţii mobili din părţile mai bătrâne, iar organele reproductive, florile şi seminţele sunt de regulă buni utilizatori de nutrienţi. Din punct de vedere al gradului de mobilitate al elementelor minerale, în ordine descrescătoare, acestea pot fi prezentate astfel: N, P, K, Mg, şi Cl, iar mai puţin mobile sunt B, Fe, Ca.

Simptomele carenţei sunt cu adevărat complexe, deoarece fiecare element mineral îndeplineşte un număr de funcţii biologice, iar fiecare funcţie posedă un set independent de interacţiuni cu un număr variabil de parametrii ai mediului. Totodată, expresia acestor simptome variază pentru carenţele acute (când un element mineral nu mai este disponibil pentru o plantă cu creştere rapidă) sau cronice (când un element mineral este asigurat continuu dar în cantităţi limitate, la o rata insuficientă în raport cu cerinţele de creştere ale plantei).

În continuare sunt prezentate aspecte legate de disponibilitatea, absorbţia, transportul, rolul fiziologic al principalelor elemente minerale şi simptomele carenţei sau excesului.

Azotul

Azotul constituie *principalul element mineral din ţesuturile plantelor*, reprezentând circa 2% din total plantă masă uscată. Disponibilitatea azotului are o influenţă majoră atât asupra cantităţii, cât şi asupra calităţii producţiei (Stougaard, 2000).

În biosferă, azotul este prezent în mai multe forme. Atmosfera conţine azot molecular (N_2), în proporţie de circa 78 % din volum, formă care nu poate fi direct asimilată de plante. Este necesară ruperea legăturilor covalente triple, dintre 2 atomi ($N \equiv N$), iar plantele nu au această capacitate. Acest proces poate fi realizat de anumite microorganisme, fie sub formă liberă, fie asociate simbiotic cu

plantele superioare. Pe de altă parte, azotul prezent sub formă de nitrat sau amoniu este uşor asimilat de plantele superioare, fiind preluat din sol prin intermediul rădăcinilor.

În sol, azotul *este disponibil sub diferite forme*, dar dintre acestea trei forme sunt mai abundente: formele anorganice nitrat (NO_3^-), respectiv amoniu (NH_4^+) şi forma organică reprezentată de aminoacizi. În mare parte, în sol azotul este prezent sub formă de molecule organice complexe, care sunt transformate la amoniu prin intermediul microorganismelor, în cadrul procesului de mineralizare. Apoi, NH_4^+ poate fi oxidat pe calea NO_2^- la NO_3^- prin procesul denumit nitrificare. Nitratul poate fi transformat în gaze cu azot (N_2, N_2O, NO, NO_2) prin folosirea NO_3^- ca acceptor de electroni în locul O_2, rezultând ceea ce se cheamă denitrificare (atunci când disponibilitatea O_2 este limitată, când este o concentraţie mare de NO_3^- în sol, umiditate mare a solului, temperatură mare în sol). Disponibilitatea azotului în plante depinde de echilibrul mineralizare, nitrificare şi denitrificare ((Miller şi Cramer, 2004).

Forma sub care este absorbit depinde de condiţiile de sol, precum şi de specie. În general, plantele adaptate unui pH acid tind să preia NH_4^+, în timp ce la valori mari ale pH-ului forma predominantă este NO_3^-. Ambele forme sunt foarte mobile. Spre deosebire de formele anorganice, compuşii organici precum aminoacizii sunt mai puțin mobili.

Absorbţia NO_3^- se realizează prin intermediul transportorilor codificaţi de gene din familiile *NRT1* şi *NRT2*. Astfel, NO_3^- este preluat prin intermediul pompei simport din familia *NRT*, în timp ce NH_4^+ cu ajutorul transportorilor *AMT* care funcţionează ca şi canale de ioni sau ca simport NH_3:H^+. În condiţii anaerobe, NH_4^+ reprezintă de obicei forma anorganică dominantă. Forma organică este transportată prin intermediul transportorilor oligopeptidici dependenți de protoni (POT/PTR).

Reducerea constituie o etapă importantă a metabolizării azotului, care se poate realiza atât în rădăcină, cât şi în partea aeriană. Procesul implică acţiunea a două enzime importante: nitrat reductaza (1) şi nitrit reductaza (2). Deci, procesele sunt separate spaţial. În citosol are loc reducerea nitratului şi în plastide /cloroplaste se realizează reducerea nitritului. În cloroplaste, nitratul (NO_3^-) este redus la nitrit (NO_2^-), prin intermediul enzimei nitrat reductaza şi cu participarea $NADPH^+ + H^+$ ca agent reducător. Apoi, nitritul este redus la NH_4^+ în cloroplastele frunzelor sau plastidele rădăcinii, prin intermediul enzimei nitrit reductaza, agentul reducător fiind de obicei feredoxina. Prin urmare, energia necesară procesului de reducere provine din oxidarea hidraţilor de carbon sau în mod mai direct din produşii fotosintezei, în cadrul fazei dependentă de lumină. Azotul redus este asimilat în aminoacidul glutamat, iar surplusul de azot este NO_3^- (3) (*fig.5.6*).

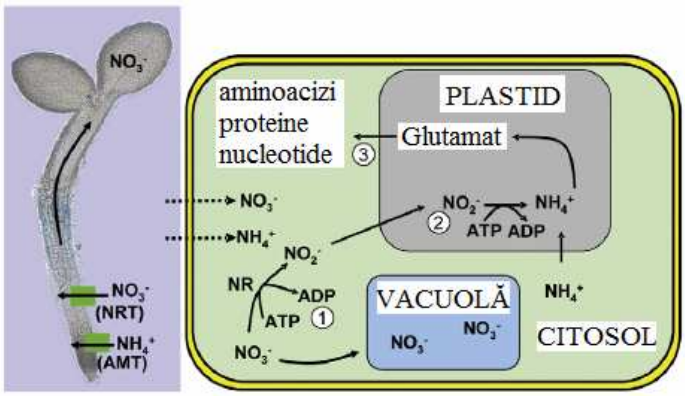


Fig. 5.6. Rolul fiziologic al azotului

Rolul fiziologic

Principala funcţie a azotului este asigurarea aminoacizilor. De asemenea, azotul este prezent în nucleotide, care sunt constituenți ai acizilor nucleici şi totodată îndeplinesc numeroase funcţii precum homeostazia energetică, semnalizarea şi reglarea proteică. Azotul este util în biochimia compuşilor ne-proteici, precum coenzimele, pigmenţii fotosintetici, metaboliţii secundari şi poliaminele. Dacă se află în cantităţi mari, NO_3^- este depozitat în vacuolă şi contribuie în mod semnificativ la generarea turgescenței.

În cazul carenţei apar simptome de cloroză generală (inclusiv nervurile), dar cu precădere la frunzele mai în vârstă. În cazul carenţelor severe, acestea ajung mai repede la faza de senescenţă şi mor. Frunzele mai tinere îşi menţin mai mult timp culoarea verde, deoarece primesc azotul sub formă solubilă, transportat din frunzele mai bătrâne. La tomate spre exemplu, apare şi o coloraţie roşietică a tulpinilor, peţiolilor şi a suprafeţelor inferioare ale frunzelor, cauzată de acumularea antocianilor.

La plante crescute în condiţii de *exces* de azot, frunzele sunt colorate în verde închis, aparatul foliar este bogat, iar raportul parte aeriană/rădăcină este mare. Fructele de tomate crapă, pe măsură ce se maturează. Înflorirea şi formarea seminţelor este întârziată.

Referitor la *impactul practicilor de fertilizare* şi a stării nutriţionale a puieţilor asupra creşterii şi stabilizării plantelor în teren, interesul a fost insuficient în trecut. Cercetările efectuate de Cabrera şi Devereaux (1999) la plante ornamentale au demonstrat că procesul de creştere a plantelor a indicat un răspuns linear şi pozitiv, corelat cu statusul plantelor în privinţa aprovizionării cu N, la transplantare. La astfel de plante, s-au constatat două faze distincte de creştere: una în pepinieră şi o alta în cadrul peisajului propriu zis. Transplantarea din pepinieră în teren creează o perioadă de stres tranziţional, perioadă critică pentru supravieţuirea şi stabilizarea acestor plante.

Fosforul

Fosforul este un element nutritiv esenţial pentru toate formele de viaţă (Correll, 1998). Mai mult de 90% din fosforul prezent în sol este fixat şi nu poate fi folosit de către plante. Poate fi absorbit sub forma anorganică (Pi), în principal ca anion fosfat (PO_4^{3-}) şi mai puţin rapid ca anion bivalent (PO_4^{2-}). Abundenţa în sol a uneia sau alteia dintre aceste forme depinde de pH-ul solului. Prezenţa $H_2PO_4^-$ este favorizată de un pH sub 7, iar HPO_4^{2-} de un pH peste 7. Absorbţia Pi se poate realiza prin intermediul transportorilor cuplaţi cu H^+.

Aprovizionarea limitată cu P a determinat evoluţia a diferite adaptări ale plantelor, respectiv peste 90% dintre speciile de plante posedă simbioze de tip micorizal (vezi Micorizele), care totodată au impact asupra expresiei unor transportori.

Spre deosebire de azot şi sulf, fosforul nu suferă un proces de reducere în plantă, ci rămâne sub forma fosfat: fie liber, fie legat de compuşi organici, precum esterii. Fosfatul anorganic se găseşte sub formă solubilă ca Pi (orto-fosfat) sau ca PP (piro-fosfat). Fosforul organic este legat în principal de grupările hidroxil ale glucidelor sau alcoolilor, pe calea esterificării. În mod alternativ, Pi se poate lega de alte grupări fosfat, prin legături piro-fosfat.

Formarea şi desfacerea legăturii piro-fosfat (1) şi legăturii de tip ester reprezintă unul dintre mecanismele principale ale homeostaziei energetice celulare. Prin hidroliza legăturii piro-fosfat a ATP se eliberează circa 30 KJ/ mol. ATP reprezintă totodată baza multor căi, precum cea a sintezei acizilor nucleici. Sunt totodată importante şi alte fosfo - nucleotide: UTP, CTP şi GTP care au rol în metabolismul acizilor nucleici.

Un rol deosebit este acela că fosforul are rol structural, deoarece intră în alcătuirea membranelor celulare. Într-un fosfolipid (3), Pi leagă partea lipofilă a zonei glicerol-acid gras, de partea hidrofilă a lipidului, respectiv de colină. Sarcina negativă a grupării fosfat face ca această parte a lipidului să fie puternic hidrofilă şi compensarea sarcinii negative este realizată prin legătura electrostatică a unui cation bivalent, în special a Ca^{2+}.

Unul dintre mecanismele prin care este modulată activitatea proteinelor constă în fosforilarea reversibilă a proteinei. Procesul este mediat de către acţiunea kinazelor, care transferă Pi la Ser sau Thr, şi fosfataze care eliberează Pi.

În cursul fotosintezei, cerinţa pentru Pi la nivel de cloroplast (4) este deosebit de mare şi este asigurată prin intermediul transportorului Pi – triozo -fosfat (aldehida 3-fosfoglicerică –G_3P) prezent la nivelul tilacoidelor.

Implicarea P în metabolismul celular este susţinută şi de cantitatea mare de P depozitată în seminţe pentru dezvoltarea embrionului, germinare şi creşterea plantulei. Depozitarea este realizată în vacuole de depozitare (PSV) (5), sub formă de inozitol-hexa-fosfat (IP6) (acidul fitic). Acesta

este un foarte bun agent de chelatare a cationilor, precum Ca^{2+}, Mg^{2+} şi K^+ (*fig.5.7.*). De asemenea sechestrează microelemente precum Fe^{2+} şi Zn^{2+}.

În cele mai multe sisteme agricole, fosforul a fost identificat ca cel mai frecvent element esenţial întâlnit, carenţele limitând producţia şi ca atare, continuă să prezinte un interes deosebit (Jones Jr., 1998). Nivelele sub-optime de P pot determina pierderi de 5-15% din producţia maximă.

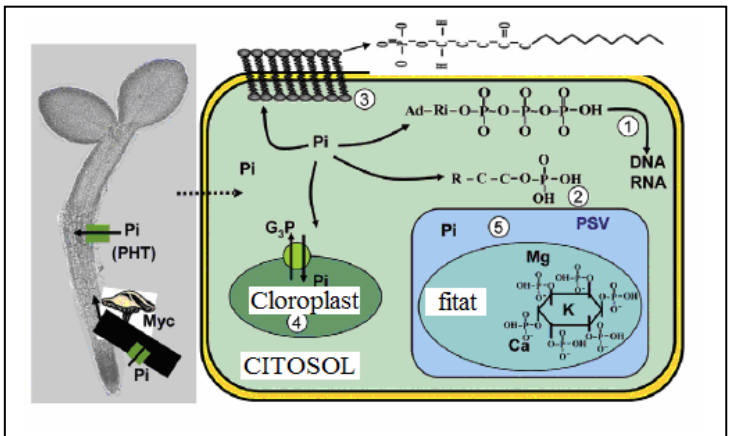


Fig.5.7. Rolul fiziologic al fosforului

Eficienţa folosirii fosforului (PUE) reprezintă capacitatea unui genotip cultivat de a funcţiona bine în condiţiile unei concentraţii mici, disponibile de fosfor. Pentru a spori PUE trebuie îmbunătăţite procesele de absorbţie, translocare (transport/ partiţie/ remobilizare) şi utilizare internă (Shenoy şi Kalagudi, 2005).

<u>În cazul carenţei</u> în fosfor, plantele au o culoare verde închis. Uneori se acumulează pigmenţi antocianici, iar frunzele cele mai bătrâne devin brun închis şi mor. Pentru că fosfatul este uşor distribuit de la un organ la altul, este uşor pierdut din frunzele mai bătrâne şi se acumulează în frunzele mai tinere, flori, seminţe. Prin urmare, simptomele carenţei apar mai întâi la frunzele mai mature.

Excesul fosforului induce o sporire a creşterii rădăcinii, comparativ cu creşterea părţii aeriene, deci invers excesului azotului. Sunt puţine cercetările sau articolele scrise despre efectul concentraţiilor mari de fosfor în plante, altele decât cele care privesc în principal asocierea cu nutriţia cu Zn şi Fe. De asemenea, se cunoaşte că P promovează absorbţia Mn. Cercetările efectuate la tomate au sugerat că o concentraţie de 1% în frunză se poate considera ca nivel critic dintre suficienţă şi toxicitate (Jones Jr., 1998).

Potasiul

Potasiul este un element mineral esenţial pentru plante. El reprezintă cel mai abundent element în plante (până la 10% din substanţa uscată). În sol, K^+ se află ca săruri anorganice solubile în apă (sulfat de potasiu, fosfat de potasiu, azotat de potasiu). Este absorbit sub formă de cationi K^+. Potasiul reprezintă un cation schimbabil. El se află adsorbit pe suprafaţa micelelor de sol şi se absoarbe prin schimb de cationi.

Transportorii potasiului în plante aparţin la trei familii de proteine: permeaze, pentru absorbţia K^+ (*KT/HAK/KUP*), familia transportorilor de K^+ (*Trk/HKT*) şi transportori de tip cation/proton antiport (*CPA*) (Gierth şi Mäser, 2007). Studiile electrofiziologice au sugerat un transport pasiv prin canale de ioni (*AKT*) şi un transport activ prin cotransport simport cu H^+ (*HAK*). Spre exemplu, la *Arabidopsis*, *AKT1* codifică un canal selectiv pentru intrarea K^+, exprimat în celulele cortexului rădăcinii (*fig.5.8.*).

O mare parte din potasiul absorbit este translocat către partea aeriană, iar procesul este mediat de canale de tipul *SKOR*, care eliberează K^+ în xilem. De asemenea, este menţinut un flux al K^+ prin intermediul floemului. Acest ciclu al K^+ se consideră că prezintă importanţă în homeostazia K^+ şi asigură un aport constant de cationi pentru a însoţi anionii, precum NO_3^- în drumul lor către partea aeriană.

K^+ are rol în a contrabalansa sarcina negativă a acizilor nucleici (1) şi proteinelor (2). De asemenea, are rol în desfăşurarea reacţiilor metabolice, deoarece activează numeroase enzime specifice (3). Spre exemplu, izo-formele vacuolar pirofosfatazei (PP –aza), care determină acumularea protonilor în vacuolă, sunt strict legate de K^+. Un alt exemplu semnificativ este cel al

sintezei proteinelor mediate de ribozomi, care necesită cantităţi mari de K^+. De asemenea, statusul K^+ în plantă poate afecta metabolismul, prin reglarea transcripţiei şi post-transcripţiei enzimelor.

Principalul rol al K^+ îl reprezintă generarea potenţialului osmotic la nivelul vacuolei (4) şi homeostazia apei.

Deşi nu intră în alcătuirea unei molecule organice şi nu este un element mineral de structură, potasiul este implicat în numeroase procese fiziologice şi biochimice vitale pentru creşterea plantelor, pentru obţinerea unei recolte de calitate şi pentru răspunsul plantelor la factori de stres etc. (Lester şi al., 2010).

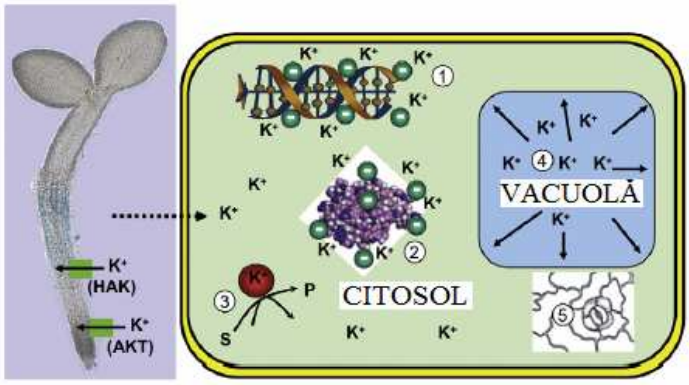


Fig. 5.8. Principalele funcţii ale potasiului

La concentraţii de sub 10g la kg substanţă uscată, la cele mai multe specii de plante apar deficienţe. Asemenea primelor două elemente prezentate anterior, K^+ este uşor distribuit din organele mature către cele mai tinere şi ca urmare simptomele carenţei apar mai întâi la frunzele bătrâne. La dicotiledonate, frunzele se decolorează iniţial, apoi se dezvoltă leziuni necrotice. La cereale spre exemplu, mor mai întâi celulele din vârful şi de pe marginea frunzelor.

Sulful

Sulful este distribuit în plante în proporţie de 0,05- 1,5%.

În sol se află sub forme anorganice şi organice, fiind absorbit sub forma anionilor bivalenţi- sulfat (SO_4^{2-}) (*fig.5.9.*), prin intermediul transportorilor specifici care folosesc energia generată prin gradientul de H^+. De asemenea, sulful poate fi preluat şi prin frunze.

Sulful este metabolizat în parte la nivelul rădăcinii (în funcţie de necesităţile acesteia), dar în mare parte este translocat către partea aeriană prin intermediul xilemului. SO_4^{2-} este foarte mobil şi este redus la nivelul părţii aeriene. Asimilarea sulfului la nivelul plastidelor implică reducerea SO_4^{2-} la SO_3^- şi ulterior la S^{2-} care este încorporat în aminoacidul cisteină. Cisteina poate fi direct inclusă în proteine sau este transformată în metionină (1). Cisteina conţine gruparea SH (tiol), grupare esenţială pentru funcţionarea proteinelor, prin formarea şi ruperea legăturii de sulf (2). Sulful redus (3) este distribuit în plante ca glutation (GSH). Prin urmare, rădăcinile primesc cea mai mare cantitate de sulf redus pe calea floemului sub forma tripeptid glutationului (Glu-Cys-Gly). Atât la nivel celular, cât şi transportul pe distanţe mari a glutationului se realizează prin intermediul transportorilor oligo- peptidici. Surplusul de sulf este depozitat în vacuole sub formă de SO_4^{2-}.

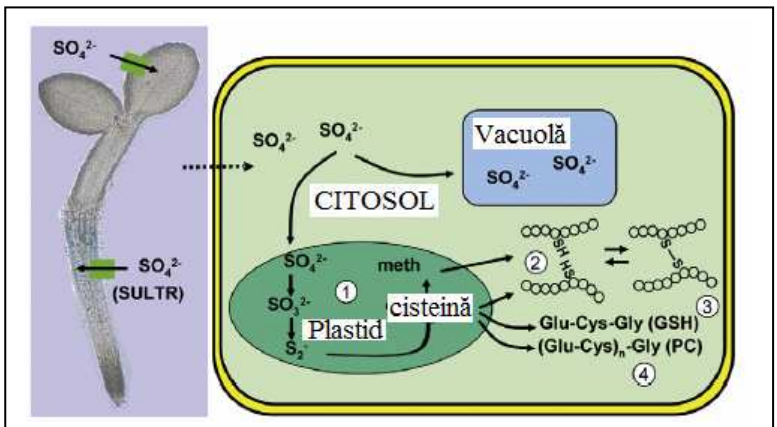


Fig. 5.9. Principalele funcţii ale sulfului

Formarea glutationului serveşte ca transportor mobil al sulfului redus, dar, acesta acţionează în general şi ca tampon redox (precum – agent reducător în detoxifierea speciilor reactive de oxigen). De asemenea, fitochelatinele (PCs) (4) cu structura de bază (Glu-Cys)n-Gly (cu n 2-5) au

afinitate pentru metale grele şi ajută la detoxifierea acestora. Cercetările recente sunt axate pe creşterea producerii de fitochelatine, nu doar pentru a spori toleranţa plantelor cultivate la poluanţi, cum ar fi Cd^{2+}, ci şi pentru îmbunătăţirea potenţialului de fitoremediere.

Sulful este prezent în sulfolipide, prezente în proporţie mică în tilacoidele cloroplastului şi se consideră că acestea au rol în stabilizarea componentelor fotosistemelor. Nivelul sulfolipidelor nu este static în membrane.

În general, solurile conţin suficient sulf, iar în situaţia carenţelor apar cloroze ale întregii frunze, inclusiv a nervurilor. Sulful poate fi absorbit şi prin ostiolele stomatelor, sub formă de gaz (SO_2^- poluant) şi H_2S. Este transformat în HSO_3^- în prezenţa apei din celule şi sub această formă inhibă fotosinteza şi distruge clorofila. Este oxidat apoi la H_2SO_4, fiind cunoscut efectul toxic al ploilor acide.

Nu este distribuit uşor din ţesuturile mature ale unor specii, aşa încât simptomele carenţei apar întâi în frunzele mai tinere, muguri, părţi apicale. La unele specii însă, multe frunze devin clorozate în acelaşi timp sau chiar se clorozează mai întâi frunzele mai bătrâne. Toxicitatea sa este rară, dar poate apărea în solurile saline, cu nivele mari ale sărurilor cu SO_4^{2-}.

Calciul

Calciul se află în plante în proporţie de 0,1-3,5%.

Este absorbit din sol sub formă de cation bivalent şi pentru că este *foarte puţin mobil* se acumulează mai ales în rădăcina plantelor şi în frunzele bătrâne. Asemenea potasiului, este un cation schimbabil, rămâne adsorbit pe suprafaţa micelelor de sol şi urmează absorbţia prin mecanismul schimbului de ioni. Un pH cu valori mari favorizează eliberarea ionilor Ca^{2+} şi legarea ionilor H^+, deci are loc schimbul K^+ - H^+.

Calciul pătrunde în rădăcină prin intermediul canalelor permeabile pentru Ca^{2+} (*fig. 5.10.*), unele fiind selective, altele ne-selective. Pentru că este relativ imobil tinde a fi sechestrat in vacuola celulelor mature.

Calciul are *rol structural şi rol de mesager secundar*.

În plantă este utilizat pentru sinteza pereţilor celulari, unde microfibrilele de celuloză sunt legate de glicani şi pectine. Grupările carboxil ale pectinelor opuse pot fi coordonate electrostatic de către Ca^{2+} şi se conferă astfel rigiditate pereţilor celulari. Este necesar pentru funcţionarea corespunzătoare a membranelor biologice. Ca^{2+} interacţionează cu grupările fosfat ale fosfolipidelor, în mod predominant la nivelul feţei dinspre peretele celular. Eliberarea calciului sau înlocuirea cu un alt cation compromite rapid integritatea membranei. Aşa se explică de altfel efectele negative ale stresului salin şi faptul că metalele grele precum cupru induc scurgerea electroliţilor.

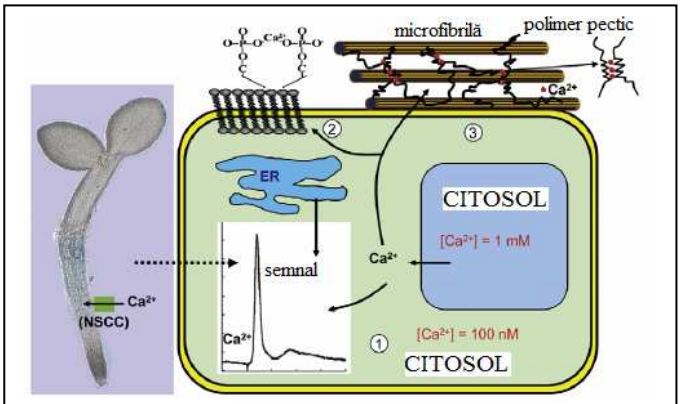


Fig.5.10. Principalele funcţii ale calciului

Concentraţia calciului la nivel de citosol este menţinută la valori mici de circa 100 nM, având în vedere faptul că, Ca^{2+} formează săruri insolubile cu sulfaţii şi fosfaţii. Aşa se explică rolul Ca^{2+} ca un ideal mesager secundar şi faptul că o serie de stimuli (inclusiv factori abiotici şi biotici de stres) determină modificări rapide ale Ca^{2+} liber din citosol. La nivelul citosolului, împreună cu proteina calmodulin, formează complexul calmodulin - calciu, cu implicaţii în reglarea multor procese metabolice.

Deoarece este un element foarte puţin mobil, simptomele carenţei se manifestă la frunzele tinere (necroza vârfurilor şi marginilor, răsucirea frunzelor), apoi necrozarea mugurilor terminali.

Sistemul radicular al plantelor în deficit de calciu, apare scurt şi puternic ramificat, iar numeroşi cercetători consideră calciul ca elementul creşterii rădăcinii.

La fructele de tomate, în seră, carenţa calciului provoacă putrezirea zonei pistilare (blossom ent rot- BER). Cercetările efectuate de Marcelle şi Bodson (1979) au reliefat că rezultatele sunt comparabile cu cele cunoscute la mere. În ambele cazuri, K, Ca şi Mg sunt implicate în apariţia dereglărilor fiziologice. Pe de altă parte, Saure (2001) a precizat faptul că BER poate fi cauzată de două categorii de factori cu importanţă egală: o susceptibilitate ridicată la diferiţi factori de stres, ca urmare a creşterii activității giberelinelor active şi a scăderii conţinutului de calciu, ceea ce măreşte permeabilitatea membranelor, iar în al doilea rând pot interveni unii factori de stres (deficit hidric, salinitate ridicată etc.).

La mere, calciul acţionează antagonist N, iar apariţia dereglărilor fiziologice a fost mult studiată. Spre exemplu, un conţinut relativ mare de Ca în fruct, asociat cu un raport mic al K/Ca şi K+Mg/Ca sunt indicatori ai unei maturări lente, ai întârzierii senescenţei (Marcelle, 1990). În legătură cu apariţia pătării amare (bitter pit), aplicarea tratamentelor cu calciu (azotat de calciu 1,5% cu 1-2 luni înainte de recoltarea sau chiar înainte de depozitare) previne apariţia acestei dereglări fiziologice. Cercetările efectuate de Dris şi al. (1998) au reliefat incidenţa dereglărilor fiziologice la soiuri de mere, după 3 luni de păstrare în proporţie de 2-13%, iar după 6 luni o proporţie de 10-95%. Fructele care au avut un conţinut de calciu de sub 45 mg/kg masă proaspătă au fost susceptibile la bitter pit şi pătarea Jonathan (Burzo şi al., 2000; Delian şi al., 1996, Delian şi al.,2000).

Excesul de calciu determină scăderea permeabilităţii membranelor plasmatice şi reduce creşterea fructelor. Cercetările efectuate la tomate, cu privire la compoziţia şi calitatea acestora, au demonstrat faptul că, conţinutul total în licopen şi caroten a scăzut odată cu creşterea concentraţiei calciului în soluţia nutritivă, datorită reducerii absorbţiei K (Paiva şi al., 1998).

Magneziul

Magneziul se află în plante în procent de 0,05- 0,7%, iar concentraţia sa în sol variază între 0,05-0,5%.

În sol se află sub formă de magnezită, dolomită, sulfat de magneziu şi silicaţi. Mg este absorbit sub formă de Mg^{2+}, fiind un element schimbabil.

Magneziul este constituent al clorofilei şi este prezent în numeroase procese fiziologice ca activator al enzimelor. Stimulează de asemenea asocierea unităţilor ribozomale, pentru formarea ribozomilor (*fig.5.11.*).

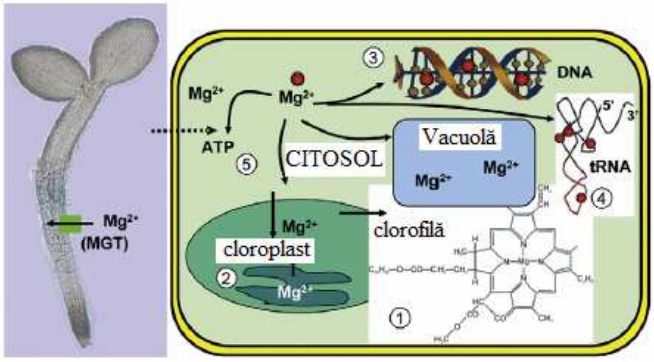


Fig. 5.11. Principalele funcţii ale magneziului

Simptomele carenţei (cloroză inter-nervuri, conducând la necroze) apar mai întâi la frunzele bătrâne, datorită mobilităţii mărite a acestui element mineral. O altă caracteristică este abscisia prematură a frunzelor. La măr este specifică desfrunzirea lăstarilor, rămânând doar câteva frunze în vârf, iar dereglarea fiziologică este denumită „boala în penson”. La spanac, frunzele capătă consistenţa hârtiei şi prezintă pete albicioase.

Fierul

Fierul este necesar în cantităţi mai mici comparativ cu principalele elemente, dar mai mari faţă de microelemente. Ca urmare, unii autori îl consideră macroelement, alţii microelement.

El se află în sol sub formă de oxizi şi hidroxizi şi este absorbit atât sub formă de ion feros (Fe^{2+}), cât şi de ion feric (Fe^{3+}). Prima formă se regăseşte în cazul solurilor acide, iar cea de-a doua

în cazul celor alcaline şi neutre. Din cauza insolubilizării sale, se recomandă folosirea agenţilor de chelatare. Cercetările efectuate de Tomasi şi al. (2009) prin utilizarea aplicării foliare, au condus la ideea că sporirea eficienţei folosirii fierului implică şi activarea mecanismelor de absorbţie care operează la nivelul frunzelor.

Starea fiziologic activă este forma bivalentă, iar la nivel celular are loc trecerea de la forma trivalentă, la cea bivalentă. Fierul intră în alcătuirea enzimelor implicate în transferul electronilor, respectiv în citocromi. Este oxidat reversibil de la fier bivalent, la fier trivalent în timpul transferului electronilor. Este constituent al catalazei, peroxidazei, feredoxinei etc. Acţionează de asemenea ca şi co-factor pentru numeroase enzime. Are un rol deosebit în respiraţie şi fotosinteză.

Carenţa specifică constă în cloroza inter-nervuri, mai întâi la frunzele tinere, fiind greu mobil. În cazul carenţei severe, prelungite, se clorozează şi nervurile, iar întreaga frunză devine albicioasă.

Cuprul

Cuprul este necesar plantelor în cantităţi mici, sub forme de urme, iar cantităţile mari existente în sol sunt toxice pentru plante. În cazul solurilor bogate în turbă, adăugarea de sulfat de calciu determină creşterea productivităţii. Este obţinut din sol mai ales din calcopirită ($CuFeS_2$), iar absorbţia se realizează sub formă de ioni cuprici (Cu^{++}).

Asemenea fierului, cuprul este asociat cu numeroase enzime implicate în procesele de oxido-reducere (ex. în plastocianină, care intervine în transferul electronilor pe parcursul fazei de lumină a fotosintezei; citocrom oxidaza; polifenol oxidaza). Este co-factor pentru enzimele reducătoare. Este de asemenea fungicid.

Simptomele carenţei se observă mai întâi la vârful frunzelor tinere, care apar verde-închis, apoi apar pete necrotice, care se extind bazal pe marginile frunzelor. În condiţii de deficienţă severă, frunzele cad prematur.

Borul

Borul este prezent în sol în cantităţi foarte mici. Plantele îl utilizează sub forma anionilor borat (BO_3^-) şi tetraborat, iar disponibilitatea sa scade cu creşterea valorii pH-ului. Există sub trei forme: acid boric, borat de calciu sau magneziu şi respectiv ca silicaţi.

Borul are un rol deosebit în metabolismul hidraţilor de carbon, a lipidelor şi hormonilor. El influenţează translocarea glucidelor, absorbţia activă a sărurilor şi procesul de nodulare la leguminoase.

Simptomele carenţei se manifestă la frunzele tinere şi mugurii terminali, sub formă de pete necrotice, cu deformarea, decolorarea şi dezorganizarea ţesuturilor meristematice. În cele din urmă, are loc moartea punctelor de creştere. Se pierde dominanţa apicală, plantele devin puternic ramificate, dar apexurile ramurilor se necrozează repede, din cauza inhibării diviziunii celulare.

Dintre speciile pomicole, mărul este foarte sensibil la carenţa în bor. Are loc deformarea, suberificarea şi crăparea fructelor. De asemenea, structuri precum fructele, rădăcinile şi tuberculii prezintă necroze şi brunificări ale ţesuturilor interne.

Zincul

Zincul este necesar sub formă de urme, iar concentraţiile mari sunt toxice.

El se află în sol sub formă minerală cu fier şi magneziu (ex. magnetită). Plantele îl folosesc sub formă de Zn^{2+} adsorbit pe suprafaţa particulelor de sol şi pe materiile organice sub formă schimbabilă. Este disponibil plantelor în condiţiile solurilor acide.

Are un rol important în sinteza proteinelor (în absenţa sa se înregistrează o creştere marcantă a nivelului compuşilor solubili cu azot). Este un element mineral cu rol important în activitatea unor enzime. Este necesar la unele plante pentru sinteza clorofilei. De asemenea, zincul favorizează procesul de creştere al plantelor, deoarece stimulează formarea triptofanului (care se consideră a fi un precursor al auxinei).

Carenţa în Zn induce reducerea creşterilor inter-nodale, frunzele sunt mici, apar cloroze inter-nervuri la frunzele mai bătrâne (ex. fasole), urmate de apariţia petelor necrotice, cu extindere de la vârf, către margini.

Pomii sunt foarte afectaţi de carenţa în Zn. Frunzele rămân mici, ca o rozetă – "*boala micilor frunze"*, mai ales la piersic. La gutui, frunzele se îngălbenesc, se alungesc, iar la prun apar pete brune în pulpa fructelor. La cireş şi păr, mugurii floriferi se desfac puţin, ovarul nu creşte, iar fructele cad.

Siliciul

Acest *element mineral util* are un efect favorabil asupra rezistenţei plantelor la boli şi dăunători. De asemenea, plantele devin mai rezistente la cădere, fiind depozitat în pereţii celulari (mai ales la *Equisetaceae*, *Gramineae*).

Efectul metalelor grele asupra fiziologiei plantei

Metalele grele, precum Cd, Pb, Cu, Ni au numeroase efecte directe şi indirecte asupra tuturor proceselor fiziologice din plante (Kastori şi al., 2000). Concentraţiile mari de metale grele alterează funcţiile enzimelor, deteriorează membranele celulare, provoacă dezechilibre hormonale şi induc modificări structurale şi ultrastructurile, inhibă fotosinteza, şi elongaţia celulară etc.

În general, cercetările în domeniu s-au axat pe efectele metalelor grele asupra fotosintezei şi nutriţiei minerale. Experimentele efectuate în cultură hidroponică au avut ca scop cuantificarea efectelor a diferite concentraţii de metale grele asupra morfologiei şi anatomiei rădăcinii şi frunzelor. S-a evidenţiat faptul că la nivelul rădăcinii s-a acumulat o concentraţie maximă a metalelor grele, comparativ cu frunzele şi tulpinile. Excesul de metale grele a redus volumul rădăcinilor, suprafaţa totală şi lungimea totală a acestora. De asemenea, s-a redus înălţimea plantelor, suprafaţa foliară şi grosimea mezofilului, iar densitatea stomatelor a crescut. Toate aceste modificări au influenţat regimul hidric al plantelor.

5.5. Adaptări ale sistemului radicular pentru favorizarea aprovizionării plantei cu apă şi substanţe minerale

5.5.1. Simbioza dintre ciupercile micorizante şi rădăcinile plantelor - Micorizele

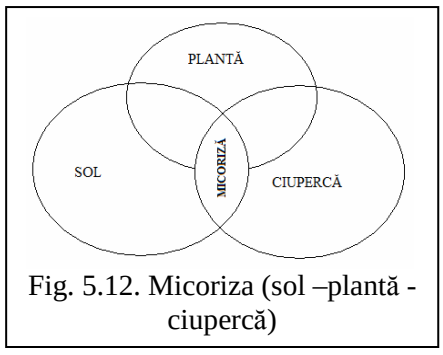


Fig. 5.12. Micoriza (sol –plantă - ciupercă)

A trăi împreună este o situaţie comună lumii biologice, în special în cazul plantelor şi în condiţiile mediului subteran (Bonfante-Fasolo şi Silvia Perotto, 1992). Asociaţiile simbiotice dintre anumite plante şi microorganisme joacă un rol important în îmbunătăţirea caracteristicilor solului şi totodată îmbunătăţesc creşterea, precum şi nutriţia minerală a plantelor (Diouf şi al., 2003). Odată cu colonizarea ecosistemelor terestre, plantele şi-au dezvoltat numeroase mijloace pentru a face faţă acţiunii a diferiţi factori biotici şi abiotici, iar una dintre cele mai reuşite strategii este capacitatea sistemului radicular de a stabili relaţii mutuale, simbiotice, reciproc avantajoase, cu microorganisme, respectiv cu diferite grupe de ciuperci (*fig. 5.12.*; *fig.5.13.*).

Micorizele sunt simbioze dintre rădăcinile plantelor superioare cu hifele unor ciuperci şi se regăsesc la peste 90 % din speciile de plante, fiind difuze şi adesea nespecifice. Astfel, când miceliul ciupercii colonizează şi leagă împreună rădăcinile a două sau mai multe plante, aparţinând uneori mai multor specii, se formează o reţea micorizală comună (CMN). Aceasta este o componentă majoră a ecosistemelor terestre, cu efecte importante asupra comunităţii plantelor (Selosse şi al., 2006).

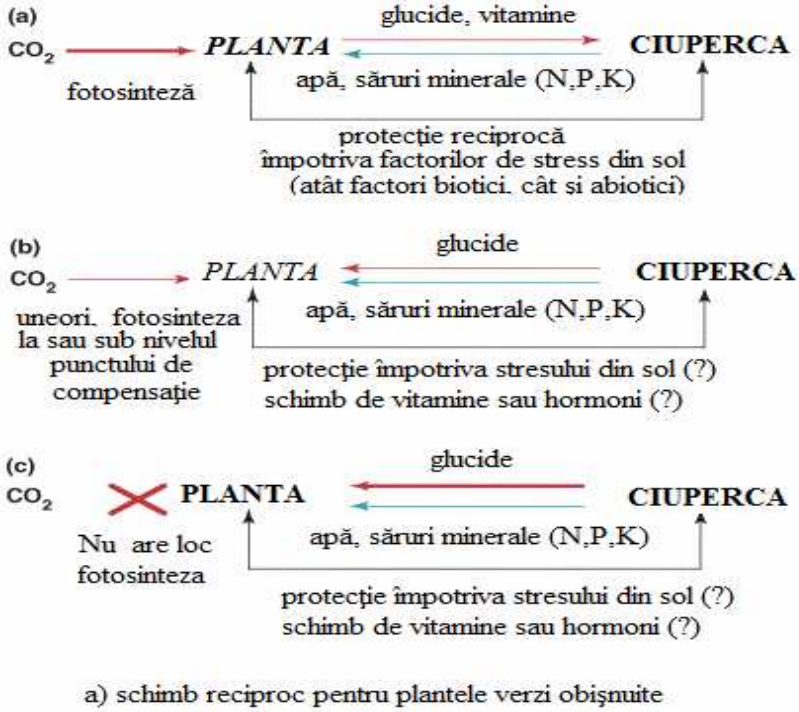


Fig. 5.13. Diferite tipuri de interacţiuni

5.5.1.1. Principalele avantaje ale plantelor cu micorize şi importanţa practică a micorizelor

Micorizele prezintă o importanţă deosebită pentru plante şi pentru ecosistem.

Printre principalele beneficii pentru plante se pot aminti:

● creşterea capacităţii de aprovizionare cu substanţe nutritive, prin extinderea volumului de sol accesibil plantelor;

● absorbţia nutrienţilor, care în mod normal sunt sub formă inaccesibilă plantelor;

● unele ectomicorize şi ciuperci ericoide au capacitatea de a biodegrada compuşi fenolici în sol, care la rândul lor pot să interfereze cu absorbţia de nutrienţi;

● asigură protecţie faţă de agenţii patogeni şi nematozi;

● efecte non-nutriţionale asupra plantelor, de tipul modificărilor regimului hidric, concentraţiei fitohormonilor, asimilarea carbonului etc.;

● beneficii legate de creşterea producţiei, acumularea elementelor minerale, efecte asupra reproducerii,

● modificări de creştere în privinţa arhitecturii rădăcinii, ţesutului vascular;

● evitarea plantelor competitive non-gazdă;

● transfer semnificativ al carbonului, prin intermediul miceliului, cu efecte asupra reducerii competiţiei între plante şi asigurării stabilităţii ecosistemelor,

● transfer de nutrienţi de la plante moarte, la plante vii etc.

Alte roluri ale micorizelor în ecosistem:

● asigurarea ciclului nutrienţilor şi prevenirea pierderii din ecosistem;

● transport de carbon din rădăcinile plantelor, către alte organisme din sol implicate în procese ale ciclului de nutrienţi;

● hifele din sol pot interveni în ciclul nutrienţior, prin preluarea de substanţe de la ciuperci saprofite;

● fructificaţiile ciupercilor micorizante şi rădăcinile cu micorize constituie surse de hrană şi habitat pentru nevertebrate;

● influenţează populaţiile microbiale din sol şi exudatele de la nivelul micorizosferei şi hifosferei;

● hifele micorizelor vezicular arbusculare contribuie la realizarea structurii solului, respectiv la agregarea particulelor de sol etc.

Prin urmare, *datorită funcţiilor lor* în exploatarea eficientă a resurselor minerale din sol şi a rolului lor bioprotector împotriva a numeroşi agenţi patogeni de sol, micorizele sunt instrumente potrivite pentru supravieţuirea multor specii de plante în diferite ecosisteme, inclusiv a multor specii de plante cultivate.

Cercetările ultimilor ani cu privire la asociaţiile simbiotice micorizale şi noile metode moleculare aplicate în investigaţiile comunităţilor fungice micorizale au deschis o perspectivă multifuncţională, incluzând mobilizarea azotului şi fosforului din polimerii organici, eliberarea nutrienţilor din particulele minerale sau suprafaţa rocilor, efecte asupra ciclului carbonului, interacţiunea cu plantele mico heterotrofe, medierea răspunsului plantelor la factorii de stres (uscăciune, acidifierea solului, metale toxice, patogeni), precum şi o varietate de posibile interacţiuni cu grupuri de alte miroorganisme din sol (Finlay, 2004).

În continuare sunt prezentate câteva exemple privind ***importanţa practică*** *a micorizelor*.

În urma studiilor efectuate în condiţii controlate, prin infectarea rădăcinilor la viţa de vie, cv. Pinot Blanc, cu *Pseudomonas fluorescens* şi *Glomus mosseae*, cel mai semnificativ rezultat a fost că ambele tratamente efectuate au redus simptomele clorozei la viţa de vie altoită pe portaltoiul sensibil (101-14) (Bavaresco şi Fogher, 1996).

La căpşun, tratamentele cu ciuperci vezicular –arbusculare, asociate cu aplicarea fosforului au sporit masa uscată şi proaspătă a tulpinilor; suprafaţa frunzelor şi numărul de frunze, comparativ cu aplicarea doar a fosforului. Se demonstrează de altfel că practic, este posibilă creşterea numărului stolonilor la căpşun, prin inocularea plantelor cu VAM, tehnică care poate fi folosită de producătorii de material săditor, pentru producerea platelor certificate de căpşun (Khanizadeh şi al., 1995). De asemenea, ciupercile vezicular-arbusculare simbiotice la căpşun au favorizat creşterea şi absorbţia nutrienţilor (Kawai şi Hotta., 1994), iar la *Vinca* s-a determinat o toleranță a plantei la alcalinitatea apei de irigare și respectiv o sporire a absorbției P, asociată cu sporirea activității fosfatazei alcaline (Cartmill și al., 2008).

Totodată, cercetările au demonstrat că plantele de cartof pre-inoculate cu VAM au rezistat mai eficient la infecţia cu patogenul *Rhizoctonia solani*, comparativ cu plantele ne-micorizate (Nasim şi al., 1996).

În cazul plantelor de fasole, eficienţa simbiozei a depins de combinaţia particulară a ciupercii care provoacă VAM, rasa de *Rhizobium* implicată, precum şi soi, iar în toate combinaţiile VAM şi rhizobia au sporit semnificativ producţia de păstăi (Daniels-Hylton, 1994).

Referitor la rezistenţa plantelor de tomate în condiţii ale concentraţiilor mari de săruri în sol, în urma cercetărilor efectuate de Coperman şi al.(1996) s-a demonstrat că deşi AM originară din soluri saline nu a promovat creşterea plantelor, reducerea concentraţiei clorului în frunză, mediată de ciupercile arbuscular-micorizale, la nivele moderate de salinitate, poate avea implicaţii benefice pentru supravieţuirea plantelor pe soluri saline.

Trebuie de asemenea remarcat efectul benefic al inoculărilor cu VAM asupra legumelor cultivate în condiţii aride (Tarafdar şi Rao, 1997).

Bethlenfalvay şi Barea (1994) au reliefat ***rolul micorizelor în cadrul agriculturii durabile***. VAM colonizează rădăcinile plantelor, dar şi solul din jurul acestora. Ele transferă elementele minerale din sol în plantă şi respectiv substanţele cu carbon din plante, către sol, având deci un dublu rol, atât asupra plantei, cât şi asupra compoziţiei microflorei solului. Experienţele cu ciuperca *Glomus mosseae* (Nicol şi Gerd.) Gerd. nu au modificat semnificativ producţia de sămânţă (8%), dar s-a îmbunătăţit agregarea particulelor de sol cu 400%, într-un sol bogat în materie organică şi fosfor. În cazul unui sol cu conţinut mic de materie organică şi fosfor, producţia de sămânţă a crescut semnificativ (57%), dar au fost doar modificări mici în ce priveşte agregarea particulelor de sol (50%). Deci, alocarea carbonului în plantă (măsurat ca producţie de sămânţă) şi sol (măsurată ca formare a agregatelor stabile în apă) este influenţat de VAM.

Se pare că ciupercile micoritice afectează şi *controlează* din punct de vedere biologic, două aspecte ale agriculturii durabile: *producţia plantelor şi calitatea solului.* Producerea artificială a micorizelor cu ciuperci eficiente reprezintă o alternativă faţă de chimizarea solului, prin creşterea eficienţei de preluare a nutrienţilor şi reducerea necesităţii de administrare a îngrăşămintelor. Se poate asigura dezvoltarea unor plante, care, altfel, tolerează greu solurile cu fertilitate scăzută sau diferite sisteme improprii (Zamfirache şi Toma, 2000). Micorizele arbusculare influenţează benefic calitatea solului, prin acţiunea combinată a hifelor extracelulare şi a glomalinei. Glomalina este o substanţă de natură proteică, insolubilă, hidrofobă (Bedini şi al., 2009), a cărei concentraţie variază de la 1,6 –la 2,3 mg /g sol (Bedini şi al., 2010).

De asemenea, Ingleby şi al. (2007) au demonstrat beneficiile inoculării cu fungi micorhizali pentru creşterea plantelor lemnoase şi au confirmat că plantele de cultură şi arborii împart aceiaşi fungi micorizali. Plantele lemnoase acţionează ca rezervoare pentru fungii micorizali inoculanţi sau indigeni, pentru plantele de cultură din jur sau altă vegetaţie anuală.

5.5.1.2 Tipuri de micorize

În funcţie de morfologia lor, de specia de plantă şi respectiv ciuperca implicată, se pot distinge câteva tipuri de asociaţii simbiotice dintre rădăcinile plantelor şi unele specii de ciuperci: ectomicorize, endomicorize, micorizele specifice plantelor ericacee, micorizele specifice orhideelor, tipul arbutoid, tipul monotropoid – specific pentru *Monotropa*. Cele de tip arbutoid sunt specifice la *Arbutus* şi *Pyrola*, sunt sub formă de manta de hife, reţea Hartig, dar totodată penetrează şi pereţii celulari ai celulelor epidermei.

În principal însă, se poate vorbi despre <u>două grupuri mari:</u>

1) ectomicorize (ECM)

Acestea sunt specifice pentru Angiosperme şi Gymnosperme lemnoase (*Fagaceae*, *Betulaceae*, *Salicaceae*, *Juglandaceae* etc.). Ciupercile care intervin ca microsimbionţi aparţin la *Zygomycota*, *Ascomycota*, *Basidiomycota*. Ciupercile alcătuiesc o manta de hife în jurul rădăcinilor (exceptând ţesutul meristematic din apexul rădăcinii), iar o parte din miceliu dezvoltă hife intercelulare, penetrând printre celulele corticale, alcătuind ceea ce se denumeşte *reţeaua Hartig* (*fig.5.14., fig.5.15.*).

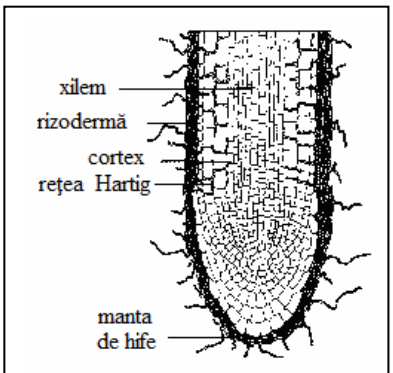


Fig. 5.14. Aspectul unei rădăcini
care prezintă ectomicoriză

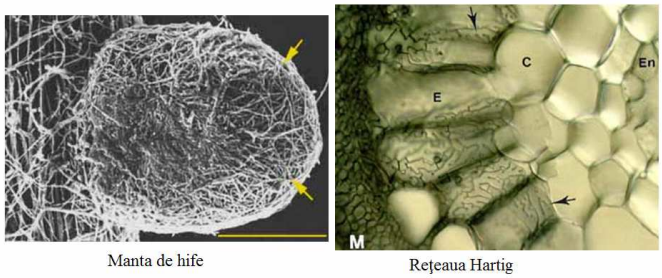


Fig.5.15. Detalii privind ectomicorizele

Hifele care intră în alcătuirea mantalei, plus cele din reţeaua Hartig reprezintă circa 40% din totalul miceliului. Restul de 60% se prelungesc în sol şi formează o reţea, cu o capacitate sporită de absorbţie.

2) endomicorize (ENM)

Astfel de micorize se întâlnesc la aproape toate speciile erbacee angiosperme (exceptând unele specii de *Chenopodiaceae* şi *Crucifere*). Aşa numitele micorize vezicular arbusculare se găsesc la circa 90% din plantele de pe glob. Ciupercile implicate aparţin diviziunii *Glomeromycota*.

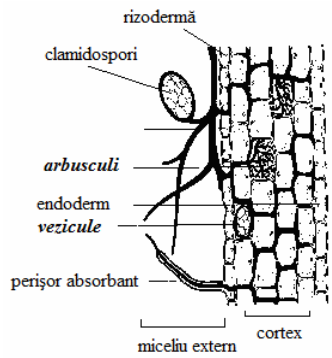


Fig. 5.16. Aspectul unei rădăcini care prezintă endomicoriză de tip vezicular arbuscular

În cazul acestui tip de micoriză, hifele odată pătrunse în rădăcini nu se răspândesc doar în spaţiile intercelulare, ci *pătrund în interiorul celulelor cortexului*. La acest nivel, se formează *structuri de tip ovoid* denumite *vezicule* sau de tip *rămuros*, denumite *arbusculi* (*fig. 5.16.*; *fig.5.17.*). Arbusculii par a fi de altfel locul unde are loc transferul substanţelor minerale între ciupercă şi planta gazdă. În vezicule se depozitează substanţe de rezervă. Deci, ciuperca nu formează un manşon, iar cantitatea hifelor este mai redusă, comparativ cu masa totală a rădăcinilor, fără a depăşi 10% din masa acestora.

Rolul acestor micorize este acela de a uşura absorbţia fosforului şi a urmelor de metale, spre exemplu zinc şi cupru. Cercetările au demonstrat că în urma existenţei asociaţiilor, rata de transport a fosforului a fost de 4 ori mai mare decât în cazul rădăcinilor neinfectate.

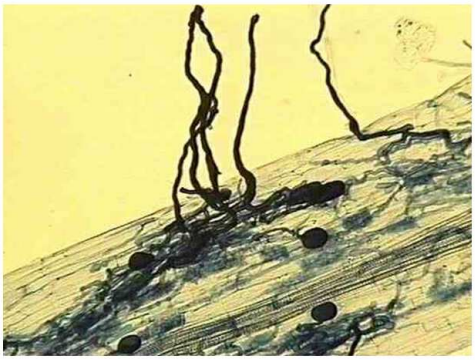


Fig.5.17. Detaliu privind endomicorizele

În ceea ce priveşte **mecanismul transferului elementelor minerale**, dacă în cazul ectomicorizelor, fosforul anorganic poate fi eliberat din hife în reţeaua Hartig, urmând a fi absorbit de celulele corticale, la VAM mecanismul pare mai complex. Substanţele nutritive pot fi eliberate din arbusculi intacţi, în celula infectată, urmând a difuza în celulele cortexului. Unii arbusculi pot să degenereze în mod continuu. În acest caz conţinutul lor este practic deversat în celula gazdă, de unde urmează a fi repartizat în întreaga plantă.

Desigur, fiind vorba despre asociaţii simbiotice, ciuperca primeşte de la gazdă glucide, în schimbul favorizării absorbţiei de către aceasta a elementelor minerale din sol.

Extinderea unor astfel de asociaţii depinde de starea de fapt a gazdei, relativ la nutriţia sa.

În cazul deficienţelor în aprovizionarea cu fosfor, tind a se forma micorize. Dacă plantele sunt crescute într-un sol fertilizat corespunzător, micorizele tind să dispară.

Micorizele de tip ericoid (ERM)

Astfel de micorize sunt caracteristice plantelor din familia *Ericaceae* (arbuşti şi subarbuşti cu frunze căzătoare sau persistente). Ciupercile implicate aparţin diviziunilor *Ascomycota* şi *Basidiomycota*. Fiziologia micorizelor ericoidale diferă în parte de ectomicorize şi VAM. Caracteristic pentru ERM este *procesul degenerării hifelor* micobiontului în interiorul celulei plantei. Micobiontul dă plantei în special fosfor, azot şi anumite microelemente şi primeşte de la plantă glucide.

ERM dă posibilitatea creşterii unor specii de plante pe soluri de altfel nepretabile creşterii acestora şi sporesc rezistenţa faţă de efectele metalelor grele. În acest sens, trebuie amintit faptul că s-a reuşit mărirea rezistenţei unor plante cultivate, prin infectarea cu ciuperci micoritice, care să le permită dezvoltarea pe terenuri " obosite" sau prea poluate cu metale grele. Metoda se practică deja la viţa de vie, pe solurile saturate cu Cu^{2+} , procedând la infecţii cu ciuperci, care provoacă formarea endomicorizelor - VAM.

Micorizele orchideoidale (ORM)

Acest tip de micoriză **este diferit de celelalte tipuri**, fiind limitat la familia *Orchidaceae* (*fig. 5. 18.).*

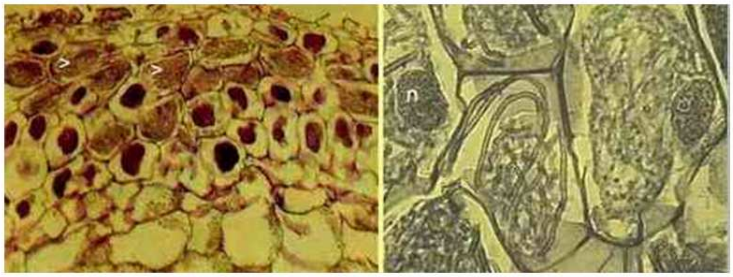


Fig. 5.18. Micorizele la orhidee

Ciupercile asociate orhideelor sunt frecvent reprezentate de *Basidiomycota* ale ordinului *Tulasnellales*, care în mod normal sunt parazite. Sunt însă şi forme saprofite, capabile să utilizeze substraturi cu carbon, precum celuloza şi lignina.

Este o situaţie cu totul diferită, deoarece **direcţia de transport a glucidelor** este cu totul **opusă**, *de la ciupercă, la plantă*. Micoriza este importantă pentru germinarea seminţelor şi în continuare, pentru creşterea orhideelor. Plantulele de orhidee sunt complet dependente de ciuperca parteneră, în ceea ce priveşte absorbţia nutrienţilor şi deci a creşterii. Ciuperca nu formează o manta de hife, ci hifele penetrează în interiorul celulelor. În principal, ciuperca transformă hidraţii de carbon în protocormul orhideelor. Odată cu formarea cloroplastelor şi deci cu desfăşurarea fotosintezei, importul hidraţilor de carbon devine mai puţin important.

Orhideele verzi, mature, sunt privite ca autotrofe, dacă ne referim la asigurarea lor cu hidraţi de carbon. Totuşi, rata lor de creştere rămâne dependentă de activitatea metabolică a miceliului. Absorbţia fosforului, rămâne să fie realizată prin intermediul ciupercii. Mutualismul simbiotic poate însă devia în orice moment către parazitism, iar rezultatul ulterior este moartea plantei. Pe de altă parte, o anumită ciupercă simbiotică poate fi eliminată de orhidee. Un exemplu extrem de endomicoriză este cel de la orhidea *Neottia nidus-avis* (heterotrofă), care trăieşte exclusiv pe seama endomicorizei.

5.5.1.3. Particularităţi ale micorizelor vezicular- arbusculare

Compatibilitatea plantelor cu ciuperci micorizante

Compatibilitatea plantelor cu ciuperci micorizante constituie un *fenomen generalizat şi vechi*. Specii aparţinând la cca 90 % din familiile de plante sunt capabile să stabilească micorize vezicular arbusculare. Probele fosilizate sugerează că simbioze de acest fel au existat cu > 400 milioane ani în urmă, în ţesuturi ale primelor plante terestre (Remy şi al., 1994). Prin urmare, capacitatea plantelor de a forma AM trebuie să fie sub controlul mecanismelor care s-au conservat în noile specii de plante, care au apărut pe parcursul evoluţiei. Această compatibilitate implică de asemenea faptul ca anumite procese de **recunoaştere selectivă** specifice plantelor, să facă discriminarea între microorganismele benefice şi cele dăunătoare. Determinanţii genetici esenţiali pentru stabilirea AM sunt comuni la o parte extinsă a regnului vegetal.

În ciuda numărului mare de gazde şi a originii foarte îndepărtate, micorizele vezicular arbusculare sunt formate prin intermediul unor ciuperci ficomicete septate aparţinând la 4 genuri: *Glomus, Gigaspora, Acaulospora* şi *Sclerocystis*.

În ultimii ani au fost efectuate studii multiple privind AM. Există totuşi numeroase carenţe în privinţa fiziologiei şi geneticii lor, pe de o parte din cauza complexităţii sistemului biologic şi pe de altă parte statutului ciupercilor micorizante arbusculare, ca simbionţi obligaţi.

Totuşi, cercetările recente au permis parcurgerea unor paşi importanţi către elucidarea mecanismelor din plante care guvernează simbiozele arbusculare, folosind mutante de plante "

micoriza- deficiente", tehnici de citologie şi biologie moleculară şi comparând interacţiunile plantelor cu microorganismele, în alte sisteme. Spre exemplu: a fost identificată o nouă clasă de proteine cunoscută sub numele de hidrofobine, izolate în ectomicoriza şi hifele ciupercii *Pisolithus tinctorius* (Martin şi al., 1995), posibil a fi implicate în procesul de agregare a hifelor şi realizarea legăturii cu rădăcinile pantelor, în vederea formării mantalei (Tagu şi al., 1996).

Colonizarea rădăcinii, recunoaşterea şi răspunsul la nivel celular

Stabilirea relaţiilor simbiotice implică dezvoltarea unor adaptări specifice pentru ambii parteneri şi coordonarea programelor lor de dezvoltare, cu semnale specifice. Plantele produc un semnal timpuriu, pentru a iniţia interacţiunea. Ciuperca produce cel puţin trei semnale: unul difuzibil, un al doilea la nivel local, care permite plantei să detecteze poziţia apresorului şi în cele din urmă un semnal autonom celulei, în celulele colonizate, care induc expresia genelor. La nivel de plantă, s-a identificat recent semnalul iniţial, respectiv ***strigolactona***. De asemenea, s-au caracterizat componentele programului simbiotic, din punct de vedere genetic şi anatomic (Reinhart, 2007). Totodată, cercetări recente au abordat bazele moleculare ale recunoaşterii şi au precizat căile comune în cazul asociaţiilor altor microorganisme cu plantele, precum şi căile specifice micorizelor arbusculare (Requena şi al. 2007) (*fig. 5.19.*).

Schimbul de semnale şi recunoaşterea dintre planta gazdă şi ciuperci micorizante arbusculare se iniţiază înainte ca partenerii să intre în contact fizic. Astfel, metaboliţii exudaţi de rădăcinile plantelor, sporesc în mod specific germinaţia sporilor şi creşterea ciupercii, comparativ cu exudatele rădăcinilor plantelor non-gazde, care n-au acest efect. Deşi, flavonoizii au fost propuşi ca şi molecule active (Phillips şi Tsai, 1992), ei nu sunt în mod absolut esenţiali în interacţiunile gazdă- ciupercă (Becard şi al., 1995). Cel dintâi fenomen definit al recunoaşterii în ciupercă este inducerea de către gazdă a ramificării hifelor, urmată de formarea apresoriilor pe suprafaţa rădăcinii. Celulele epidermice şi hipodermice care vin în contact cu aceste prime structuri ale infecţiei nu exprimă modificări citologice semnificative sau răspunsuri tipice de apărare (Gianinazzi-Pearson şi al., 1996). Ciuperca invadează rădăcina, atât intercelular cât şi intracelular.

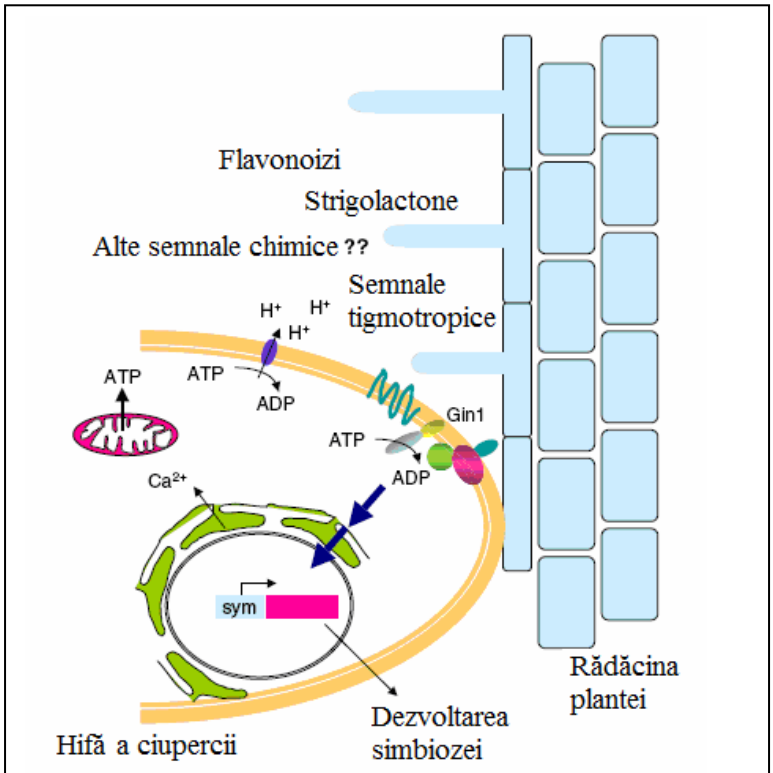


Fig. 5.19. Căi ale recunoaşterii, în vederea stabilirii simbiozei

Reacţia plantei la traversarea de către o hifă a celulei epidermice sau hipodermice este aparent redusă la sinteza unei membrane derivată din gazdă şi depunerea de material specific pentru peretele celular, în mod continuu, în jurul ciupercii.

Dezvoltarea ciupercii este limitată la nivelul ţesuturilor externe ale rădăcinii şi hifele înaintează încet către parenchimul cortical intern, unde miceliul proliferează intercelular de-a lungul rădăcinii. Aici, hifele se ramifică intracelular şi diferenţiază structuri caracteristice acestei simbioze - arbusculi. Arbusculii sunt structuri efemere. Arbusculii individuali îşi ating dezvoltarea completă în câteva zile,

apoi încep să degenereze. *La nivelul celulelor care conţin arbusculi* sunt induse *modificări citologice de amploare.* Vacuolele se reduc ca mărime, în timp ce volumul relativ al citosolului creşte, iar organitele celulare (mitocondrii, plastide, dictiozomi şi reticulul endoplasmatic) proliferează. Acumularea apocarotenoizilor sugerează o reorganizare dramatică a plastidelor responsabile pentru biosinteza acestor compuşi. Plastidele par a fi organite cheie pentru stabilirea interfeţei simbiotice, în cazul micorizelor arbusculare (Fester şi al., 2007).

Odată cu dezvoltarea arbusculului şi reactivarea compartimentării celulare, nucleul celulei plantei se deplasează către centrul celulei şi este supus hipertrofierii. Este evident că, o asemenea reorganizare a conţinutului celulei gazdă necesită sinteza unor componente ale citoscheletului, deoarece în celulele colonizate este însoţită de activarea transcripţională a genei din plantă pentru α - tubulină (Bonfante şi al., 1996). Nucleul este caracterizat prin creşterea sensitivităţii nucleazei şi dispersia cromatinei. Toate aceste modificări reflectă o de-condensare a cromatinei, care este un indiciu al unei puternice activităţi de transcripţie a genomului plantei, în celulele cu arbusculi.

Înaintarea ramificaţiilor ciupercii în celulele gazdă provoacă sinteza de novo a *membranei periarbusculare* (PAM). Aceasta este derivată din membrana plasmatică periferică şi înconjoară complet arbusculul. Suprafaţa rezultată la contactul dintre protoplastul celulei gazdă şi celule ciupercii, creează interfaţa simbiotică. Este o zonă specială a apoplastului, zonă pentru realizarea schimbului de nutrienţi dintre simbionţii micorizei.

Interfaţa simbiotică şi rolul acesteia în realizarea schimburilor între simbionţi

Biosinteza intensă a membranei periarbusculare este asociată cu activitatea de construire specifică a peretelui celular. De altfel, ca şi în situaţia celulelor epidermei sau hipodermei, materialul specific este depozitat împotriva invadării hifelor ciupercii, de către protoplasma celulei plantei. Totuşi, în celulele parenchimului cortical, acest material specific pentru perete celular se subţiază progresiv spre exterior, în jurul ciupercii în creştere, formând un matrix de fibrile dezorganizate, care separă membrana periarbusculară de peretele celular al arbusculului, creându-se o zonă interfacială de 100 nm sau mai puţin. Când arbusculii încep să devină senescenţi, materialul fibrilar încapsulează structurile fungice ajunse la colaps. Ulterior, nucleul gazdei, citoplasma şi vacuola îşi recapătă aspectul dinainte ca celula să fie invadată, ceea ce demonstrează dezvoltarea plasticităţii celulelor parenchimului cortical al rădăcinii.

Semnificaţia compoziţiei moleculare a interfeţei simbiotice este în prezent un subiect încă de dezbătut. Peretele celular derivat al plantei poate în mod simplu să prevină contactul fizic dintre peretele celular al hifei şi suprafaţa protoplastului celulei plantei. Totuşi, detecţia în acest compartiment celular a proteinei din grupul 1-PR, care nu-i depozitată în jurul hifelor care traversează celulele epidermice şi hipodermice poate reflecta un răspuns defensiv nespecific, care poate contribui la controlul răspândirii ciupercii în gazdă (Gianinazzi- Pearson şi al., 1996). Proteinele PR implicate în răspunsul defensiv al plantelor includ: chitinaze acide sau bazice şi β-1.3-glucanaze, care sunt hidrolaze antimicrobiene (Collinge şi al., 1994). O altă posibilitate, ar fi ca moleculele acumulate în interfaţa simbiotică să poată acţiona ca semnale pentru recunoaşterea între plante şi ciuperci. Mai mult decât atât, până când nu sunt cunoscute capacităţile heterotrofe ale ciupercilor arbusculare, nu se poate exclude faptul că, precursorii peretelui celular asigură de asemenea o sursă de carbon redus simbiontului fungic (Smith şi Smith, 1990).

În ceea ce priveşte natura chimică a moleculelor transferate transversal interfeţei simbiotice, aceasta nu este definită. Însă, în contextul general al micorizelor plantelor, ţesutul micorizal funcţionează ca un rezervor fungic pentru carbonul asigurat ca fotosintetizant şi ca sursă de fosfat, transportat din sol, în rădăcină, pe calea ciupercii (Shachar-Hill şi al., 1995).

Schimbul nutritiv poate fi asigurat prin transportul pasiv al soluţiilor în interfaţă, urmat de absorbţia activă de către celulele simbiont, traversând membranele. Trebuie precizat că membrana periarbusculară (PAM) nu este diferită structural şi citochimic de plasmalema periferică. Faptul că la nivelul ei are loc un transport activ derivă din observaţia că există o H^+ - ATP-ază şi activităţi ale fosfatazei nespecifice, la interfaţa simbiotică a câtorva plante. Rolul principal al H^+ - ATP-azei ar fi acela de transport al nutrienţilor, în ambele sensuri. Deversarea fosfatului din apoplastul interfacial, în

celula plantei, va avea loc împotriva gradientului de concentraţie. Forţa motrice a protonilor poate asigura energia necesară pentru transportul acestui anion într-un sistem simport. Pomparea protonilor odată cu activarea pompei de protoni în membrana (PAM), poate acidifia apoplastul interfacial. Scăderea pH-ului este posibil să contribuie la scăderea fermităţii peretelui celular, lucru observat în timpul dezvoltării arbusculilor, fie prin ruperea legăturilor acid-labile, fie prin activarea enzimelor litice în peretele celular (Rayle şi Cleland, 1992). Modularea H^+-ATP-azei la nivelul plasmalemei de către proteinkinaze a fost implicată în transducţia semnalului, care reglează răspunsul defensiv al plantei în interacţiunea cu patogenii fungici (Xing şi al., 1996).

5.5.2. Fixarea biologică a azotului – Simbiozele de tip rhizobial şi actinorhizal

Azotul este elementul nutritiv necesar plantelor în cea mai mare cantitate. În agricultură, disponibilitatea azotului are o influenţă majoră atât asupra cantităţii cât şi asupra calităţii producţiei (Stougaard, 2000).

În biosferă, azotul este prezent în mai multe forme: atmosfera conţine azot molecular (N_2), în proporţie de circa 78 % din volum. Această formă nu poate fi direct asimilată de plante, fiind necesară ruperea legăturilor covalente triple, dintre 2 atomi ($N \equiv N$). Plantele nu au această capacitate. Pe de altă parte, azotul prezent sub formă de nitrat sau amoniu este uşor asimilat de plantele superioare.

Fixarea azotului molecular prin acţiunea microorganismelor se desfăşoară în cursul procesului denumit " fixarea biologică a azotului ". Acest proces se realizează fie prin intermediul bacteriilor care trăiesc libere, fie prin intermediul celor asociate simbiotic cu plantele superioare, în special cele care aparţin familiei Leguminosae. Acesta reprezintă principalul proces prin intermediul căruia azotul pătrunde în ecosistemele naturale, iar fixarea asociată cu plantele vasculare contribuie în cea mai mare măsură la azotul adăugat (Cleveland şi al., 1999).

Se cunosc o varietate de microorganisme care pot contribui la fixarea azotului. În cazul plantelor superioare se pot aminti câteva asociaţii simbiotice (*tabelul 5.4.*).

Tabelul 5.4.

Asociaţii simbiotice pentru fixarea azotului molecular la plante superioare

Nr. crt.	Planta	Microorganismul
1	Plante leguminoase	*Rhizobium, Bradyrhizobium*
2	*Alnus*	*Frankia*
3	Ierburi tropicale	*Azospirillum*

După unii cercetători, ***bacteriile implicate*** în acest proces aparţin la patru genuri:

- ***Rhizobium***
- ***Bradyrhizobium***
- ***Sinorhizobium***
- ***Azorhizobium***

- *Photorhizobium* este un alt grup, propus recent.

5.5.2.1. Particularităţi fiziologice ale stabilirii simbiozei bacterie- rădăcină

Asociaţia simbiotică dintre o bacterie fixatoare de azot şi rădăcina plantei se realizează în cadrul unor structuri multicelulare denumite noduli.

Microsimbionţii capabili de formarea nodulilor sunt diferiţi:

► ***Rhizobia*** - unicelulare, Gram- negative;
► ***Frankia***- filamentoase, ramificate, Gram-pozitive.

Din punct de vedere al formării nodulilor şi al funcţionalităţii lor, cel mai bine caracterizate sunt asociaţiile dintre rădăcinile plantelor leguminoase din familia *Fabaceae* şi bacteria *Rhizobium.* Rhizobia realizează simbioză şi cu o specie din familia *Ulmaceae*, respectiv *Parasponia andersonii*. Sunt însă şi câteva plante din alte familii denumite plante actinorizale. Ele constau din 22 genuri de arbuşti lemnoşi şi pomi din 8 familii. În literatura de specialitate se menţionează faptul că din 122 genuri de *Rosaceae*, numai 4 genuri fixează azotul pe cale biologică (ex. din *Betulaceae – Alnus*, din *Eleagnaceae – Eleagnus, Hipophae*).

Frankia poate interacţiona cu diferite dicotiledonate, membre a 8 familii diferite, denumite colectiv plante actinorizale (Benson şi Silvester, 1993). Baker şi Mullin (1992) au menţionat faptul că gazde actinorizale de arbori şi arbuşti s-au identificat la diferite familii din *Betulaceae*, *Eleagnaceae*. *Myricaceae*, *Rhamnaceae*, *Casuarinaceae*, *Coriaricaceae*, *Rosaceae* şi *Datiscaceae*. În cazul simbiozei, ca şi în condiţii de bacterii libere, *Frankia* poate forma vezicule de fixare a N_2 la capătul filamentelor sale. În aceste vezicule, nitrogenaza bacteriană este protejată de O_2 de o " anvelopă " multistratificată care constă din hopanoizi (lipide sterolice bacteriene).

Leguminoasele şi plantele actinorizale pot stabili de asemenea asociaţii simbiotice cu ciuperci din ordinul *Glomales*.

Condiţiile necesare pentru fixarea azotului molecular

Procesul de fixare a azotului molecular se realizează prin intermediul enzimei **nitrogenaza**, enzimă foarte sensibilă la concentraţii mari de oxigen. Deoarece nitrogenazele sunt inactivate ireversibil de O_2, procesele de fixare a azotului pot avea loc în condiţii anaerobe. Astfel, fiecare dintre microorganismele prezentate funcţionează în condiţii naturale anaerobe, sau pot crea condiţii anaerobe interne, în prezenţa oxigenului. În cazul asociaţiilor simbiotice între bacterii şi rădăcinile plantelor, cantitatea de oxigen liber este redusă datorită ratei ridicate a respiraţiei simbionţilor pe de o parte şi a prezenţei unei proteine care leagă oxigenul (*leghemoglobina*) pe de altă parte.

Caracteristica interacţiunii plantă gazdă (macrosimbiont) şi endofit (microsimbiont) este apariţia unei structuri specifice, aşa numitul " ***nodul*** ", care se dezvoltă la nivelul rădăcinilor, după ce bacteria şi gazda se recunosc reciproc. Proteina leghemoglobină este prezentă în citosolul nodulilor, la o concentraţie mare (700 μM în nodulii de soia) şi dă nodulilor culoarea roz. Porţiunea globină este produsă de planta gazdă, ca răspuns la infecţia provocată de bacterie, iar hemul este produs de simbiontul bacterial. Leghemoglobina se crede a avea rol de tampon pentru concentraţia de oxigen în nodul, permiţând respiraţia fără a înhiba nitrogenaza. De asemenea, ea acţionează ca transportor de oxigen, uşurând difuzia acestuia prin stratul care înconjoară celulele bacteriene simbionte. Deci, acţionează în mod similar hemoglobinei în cadrul sistemului circulator animal.

Cercetările efectuate de Pierrette şi al. (2005) au demonstrat de asemenea că expresia aquaporinelor în celulele corticale interne la nodulii de soia s-a găsit a fi implicată în mecanismul de difuziune a O_2 în noduli. S-au efectuat studii comparative în privinţa expresiei aquaporinelor PIP şi γ-TIP atât în celule cortexului, cât şi celulele vecine. S-a demonstrat că PIP1 şi PIP2 au fost exprimate mai mult în celulele cortexului şi în endoderm, decât în periciclu şi în celulele infectate, în timp ce γ-TIP au avut o distribuţie similară celor PIPs. Concluzia a fost că aquaporinele PIPs şi γ-TIP se exprimă puternic atât în plasmalema, cât şi în tonoplastul celulelor nodulilor de la nivelul cortexului. Această distribuţie semnifică rolul posibil în privinţa fluxului apei, asociat cu reglarea conductanţei pentru difuzia O_2 şi ulterior desfăşurarea activităţii nitrogenazei. La nivel de endoderm, aceste aquaporine pot fi de asemenea implicate în transport de nutrienţi între zona infectată şi sistemul vascular.

În mod obişnuit, *Rhizobium* trăieşte liberă în sol, iar formarea nodulilor are loc numai când planta este crescută într-un sol cu deficit de azot şi numai dacă este prezentă în sol o bacterie compatibilă cu gazda. Această selecţie făcută de gazdă semnifică faptul că speciile de *Rhizobium* pot recunoaşte planta gazdă şi invers (*tabelul 5.5*).

Tabelul 5.5.

Tipuri de asociaţii simbiotice ale plantelor cu specii de *Rhizobium*

Nr.crt.	Specii de Rhizobium	Gazde preferate
1	*R.leguminosarum*	mazăre
2	*R.trifolii*	trifoi
3	*R.faseoli*	fasole
4	*R.meliloti*	lucernă
5	*R. japonicum*	soia

Dezvoltarea nodulilor

Cercetările efectuate de Wopereis şi al. (2000) au precizat că primele ***semnale secretate de planta gazdă în rizosferă*** pot fi (izo)flavonoizi, stachidrine sau acizi aldonici (cel mai bine studiaţi fiind flavonoizii). Aceste molecule induc chemotaxia pentru rhizobia şi expresia genelor nodulării (nod). În timpul formării nodulilor, la leguminoase, rădăcinile plantelor secretă flavonoizi, care induc transcripţia genelor nod rizobiale. Acestea codifică proteinele care catalizează sinteza factorilor Nod, respectiv a unor lipo- chito- oligozaharide în plantă (Long, 1996). Factorii Nod induc primele etape ale formării nodulilor, prin inducerea diviziunii celulare în cortex. Noile celule vor forma primordiul nodulului. Simultan, bacteria intră în rădăcină şi se deplasează către celulele primordiului, infectează aceste celule şi primordiul se dezvoltă într-un nodul matur. Daidzeina şi genisteina (izoflavonoizi produşi de soia - *Glycine max*) sunt inductori eficienţi ai genelor nod la *Bradyrhizobium japonicum*, dar inhibă expresia genelor nod la *S. meliloti* (Hirsch şi al., 2001). Pe lângă flavonoizii exudaţi de multe leguminoase, lucerna (*Medicago sativa*) eliberează trigonelină în rizosferă. Trigonelina activează specific expresia unei clase de gene în *Rhizobium meliloti* (genele *tre*), care aparent sunt implicate în catabolismul trigonelinei (Boivin şi al., 1990). Autorii au sugerat că trigonelina poate fi folosită ca sursă de hrană de către bacterie, pe parcursul tuturor stadiilor relaţiei simbiotice, inclusiv în rizosferă şi în nodulii plantei gazdă.

Formarea nodulilor la nivelul rădăcinii implică două procese simultane**:** infecţia şi organogeneza nodulilor**.** Diferitele stadii ale acestor procese sunt redate în *figura 5.20.* (după Taiz şi Tiger, 2006)**.**

Bacteriile migrează către rizosferă, *se atașează* de plantă pe calea unui receptor al plantei şi respectiv a unei proteine de pe suprafaţa bacteriei - ricadesin (Smit et al., 1987) *și infectează* perișorul absorbant. Se consideră că rădăcinile leguminoaselor secretă proteine care leagă glucide (ex. lectine).

În cursul infecției, se parcurg mai multe etape:

● fixarea bacteriei pe vârful perişorilor induce curbarea pronunţată a acestora; curbarea se crede a fi stimulată de producerea de către bacterie a hormonului auxină;

● bacteria induce hidroliza peretelui celular al perişorului, permiţând accesul direct al celulelor bacteriene pe faţa externă a plasmalemei;

● invaginarea plasmalemei (datorită fuziunii veziculelor membranale derivate din ComplexulGolgi) şi pe măsură ce tubul se extinde în interior, se depozitează un nou strat subţire de perete celular. Se formează astfel o structură tubulară, cunoscută la *Rizobia* cât şi la *Frankia*, ca fir de infecţie.

● Când firul de infecţie atinge baza celulei perişorului absorbant, fuzionează cu plasmalema şi eliberează bacteria în buzunare ale apoplastului. Membrana firului infecţiei fuzionează cu plasmalema celulei gazdă. Bacteria din apoplast, aparent degradează peretele celular, pentru a avea acces la plasmalema celulei subepidermale şi procesul infecţiei se repetă.

►După ce firul de infecţie ajunge la primordiul nodulului, bacteria este eliberată în celulele primordiului, printr-un proces asemănător endocitozei. În timpul acestui proces, rhizobia devine închisă de o membrană derivată din celulele plantei, membrana peribacterioidului (PBM). PBM împreună cu bacteria şi spaţiul dintre bacterie şi PBM formează simbiozomul. În simbiozom, rhizobia diferenţiază în forma endosimbiotică - bacterioizi - şi începe fixarea N_2.

În cazul nodulilor la non-leguminoase, respectiv la *Parasponia*, bacteria nu diferenţiază bacterioizi.

Iniţierea diviziunii celulei nu este urmarea infecţiei. De obicei, diviziunea celulelor cortexului precede infecţia şi are loc la câteva celule distanţă, faţă de avansarea firului de infecţie.

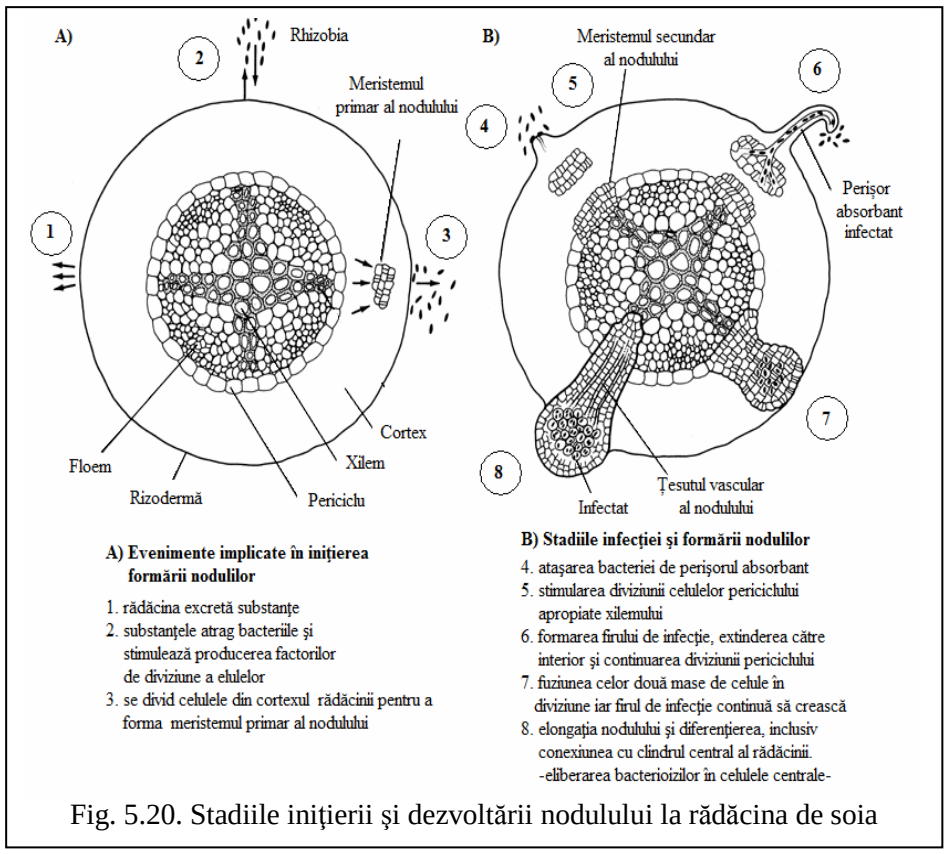

A)
Rhizobia
Meristemul primar al nodulului
Cortex
Floem
Xilem
Rizodermă
Pericicliu
B)
Meristemul secundar al nodulului
Perişor absorbant infectat
Infectat
Ţesutul vascular al nodulului
A) Evenimente implicate în iniţierea formării nodulilor
1. rădăcina excretă substanţe
2. substanţele atrag bacteriile şi stimulează producerea factorilor de diviziune a elulelor
3. se divid celulele din cortexul rădăcinii pentru a forma meristemul primar al nodulului
B) Stadiile infecţiei şi formării nodulilor
4. ataşarea bacteriei de perişorul absorbant
5. stimularea diviziunii celulelor pericicluhui apropiate xilemului
6. formarea firului de infecţie, extinderea către interior şi continuarea diviziunii pericicluhui
7. fuziunea celor două mase de celule în diviziune iar firul de infecţie continuă să crească
8. elongaţia nodulului şi diferenţierea, inclusiv conexiunea cu clindrul central al rădăcinii. -eliberarea bacterioizilor în celulele centrale-

Fig. 5.20. Stadiile iniţierii şi dezvoltării nodulului la rădăcina de soia

Mecanismul reactivării mitozei nu este încă clar, dar se sugerează că factorii Nod afectează balanţa fotohormonilor în cortexul rădăcinii. De exemplu, noduli liberi de bacterii pot fi induşi în rădăcinile leguminoaselor, cu *Escherichia coli*, care produce citochinine (Cooper si Long, 1994).

În timpul formării nodulilor este indusă în periciclul rădăcinii expresia primei gene de nodulare - ENOD 40. Adăugarea unor factori Nod exogeni este suficientă pentru activarea acestei gene (Frassen şi al., 1995). Aceasta demonstrează că pe lângă epidermă şi cortex şi periciclul poate răspunde la factori Nod.

Nodulinele sunt clasificate în două grupe, după momentul formării lor: noduline *timpurii* (ENOD) identificate pe parcursul procesului de infecţie şi a formării nodulilor şi noduline *târzii*, a căror exprimare are loc în nodulii aflaţi în stare de funcţionalitate. Pentru plantele actinorizale, nodulii sunt derivaţii ai primordiilor rădăcinilor laterale. Nu există proteine analoage cu nodulinele din leguminoase. Nodulinele târzii sunt induse înaintea fixării azotului şi includ principalele enzime implicate în asimilarea azotului, metabolismul carbonului şi protecţia nitrogenazei faţă de oxigen, precum şi proteinele localizate în membrana peribacterioidală.

Nodulii leguminoaselor au o organizare asemănătoare unei tulpini. Ei prezintă un sistem vascular periferic, în contrast cu sistemul vascular central la actinorizale şi nodulii de la *Parasponia*.

În cazul simbiozelor actinorizale, substanţele implicate în interacţiunea plantă –*Frankia*-ciuperci nu au fost în mod clar identificate. Infecţia intracelulară a fost însă descrisă la genurile *Myrica*, *Comptonia*, *Alnus* şi *Casuarina* (Berry şi Sunell, 1990).

5.5.2.2. Procese fiziologice şi biochimice privind fixarea azotului molecular

Procesul de fixare a azotului molecular se realizează în noduli şi este catalizat de enzima - nitrogenază. În cazul nodulilor de soia şi mazăre, sinteza enzimei are loc imediat ce bacteria este eliberată din firul de infecţie. Aproximativ în acelaşi timp, în celulele gazdei este produsă leghemoglobina, care dă nodulilor culoarea roz. La *Rhizobium* şi *Bradyrhizobium*, dezvoltarea

activităţii nitrogenazei este paralelă cu represia glutamin sintetazei (GS). Bacterioizii pot reduce N_2 la NH_4, dar nu pot asimila NH_4^+ în compuşi organici. Acest ultim rol este preluat de gazdă. La *Azorhizobium*, se poate fixa şi asimila N_2 ex-plantă (Dreyfus şi al., 1988).

Reacţia generală privind fixarea azotului molecular în prezenţa complexului enzimatic nitrogenază este următoarea :

$$N_2 + 8\,e^- + 8\,H^+ \xrightarrow[16\ ATP]{\text{nitrogenaza}} 2NH_3 + H_2 + 16\,ADP + 16\,P_a$$

Deşi amoniacul (NH_3) este produsul direct al reacţiei, el este repede ionizat la amoniu - NH_4^+.

Nitrogenaza reprezintă un *complex enzimatic* care se poate separa în două componente:

- *proteina cu Fe;*
- *proteina cu MoFe.*

Nici una din cele două componente nu are efect catalitic singură.

Proteina cu Fe este mai mică şi constă din două subunităţi identice, de 30.000- 70.000 Da, în funcţie de organism. Este extrem de sensibilă la O_2, cu un "*half-time*" de 30-45 s. Proteina cu MoFe are 4 subunităţi, iar masa totală este de 180.000- 235.000 Da. Este inactivată de O_2, "*half-time*" este de 10 min.

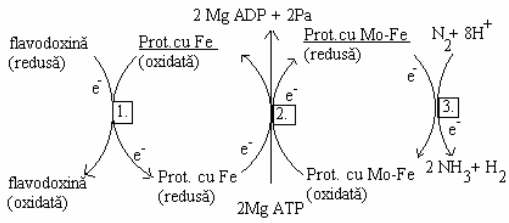


Fig. 5.21. Schema reacţiilor catalizate de nitrogenază

În cadrul reacţiei catalizată de nitrogenază, proteina feredoxină are rol de a dona electronii la proteina cu Fe, care apoi va reduce proteina cu MoFe. În ambele etape este implicată hidroliza ATP. Proteina cu MoFe reduce substratul reprezentat de N_2 (*fig.5.21.*).

În ceea ce priveşte sursa originală de electroni şi protoni, aceasta o constituie de fapt hidraţii de carbon formaţi în frunze în timpul fotosintezei şi apoi translocaţi prin floem în nodulii rădăcinii. Cel mai abundent hidrat de carbon translocat (cel puţin la legume) este zaharoza. Biodegradarea în bacterioizi (prin respiraţie), permite reducerea $NADP^+$, la $NADPH_2$. La unele organisme fixatoare de azot, în timpul oxidării acidului piruvic are loc reducerea unei proteine numită flavodoxină. Apoi, flavodoxina, $NADH_2$ sau $NADPH_2$, reduc feredoxina, sau o proteină similară, care este foarte eficientă în privinţa reducerii N_2, la NH_4^+.

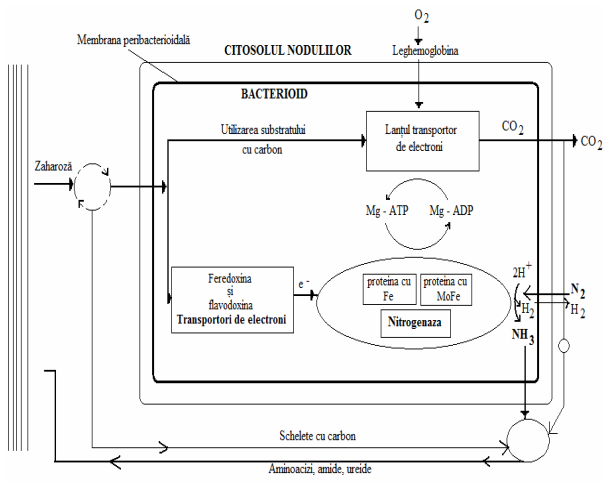


Fig. 5.22.Model al relaţiilor dintre nitrogenază şi reacţiile din bacterioizi şi citosol în nodulii leguminoaselor

După fixare, NH_3 (probabil ca NH_4^+) este translocat în afara bacterioizilor. În citosolul celulelor care conţin bacterioizi (dar extern PBM) este transformat în glutamină, acid glutamic, asparagină şi în multe specii, în compuşi bogaţi în azot, numiţi ureide. Principalele două ureide la legume sunt: - alantoina ($C_4\,N_4\,H_6\,O_3$) şi acidul alantoic ($C_4\,N_4\,H_8\,O_4$).

Asparagina şi ureidele se deplasează din celulele care conţin bacterioizi, în celulele pericliclului adiacente ţesuturilor vasculare. La multe specii, aceste celule sunt modificate ca celule de transfer, care secretă activ compuşi cu azot în xilem (*fig. 5. 22.*).

Tipuri de noduli şi reglarea numărului nodulilor

La leguminoasele erbacee pot fi găsite două tipuri principale de noduli:

1) noduli cu creştere determinată (ex. *Glycine, Phaseolus*)

Meristemul încetează devreme activitatea sa. Au formă sferică, iar forma lor finală rezultă din creşterea celulelor, mai degrabă decât din diviziunea celulei. Au viaţă scurtă şi sunt înlocuiţi permanent pe parcursul sezonului de creştere. La momentul umplerii boabelor, în general pierd capacitatea de fixare a N_2 , deoarece planta hrăneşte mai degrabă sămânţa în dezvoltare, decât nodulii. Fasolea are în general mai puţin de 100 noduli/plantă, soia are câteva sute, iar arahidele pot avea 100 sau mai mulţi noduli pe o plantă bine dezvoltată.

2) noduli cu creştere nedeterminată (ex. *Pisum, Medicago*)

Sunt **c**aracterizaţi prin existenţa unui meristem persistent al nodulului. Au formă alungită şi cilindrică. Exemple - la mazăre, trifoi, lucernă.

Pentru a exista o relaţie simbiotică şi a nu se ajunge la parazitism, numărul nodulilor trebuie să fie controlat. De altfel, formarea lor este inhibată, după ce un număr de noduli s-a format (Wall şi Huss-Danell, 1997). Această autoreglare lisează la câteva mutante monogene de leguminoase, care exprimă ceea ce se denumeşte tip supernodulativ. De altfel, părţile aeriene au o creştere redusă, ceea ce indică faptul că relaţia cu *Rhizobium* a devenit de tip parazitar.

Experimentele având la bază altoirea la leguminoase au relevat faptul că există un factor implicat în această autoreglare, un factor activ chiar în cazul unor specii diferite. Probabil este vorba despre un semnal translocabil, format în rădăcinile afectate. Acesta induce formarea unui factor translocabil în tulpină, care controlează formarea unui anumit număr de noduli. Natura moleculară a acestor semnale nu este cunoscută. Probabil este vorba despre compuşi asemănători cu acidul abscisic, implicaţi în inducerea unui stadiu dormind (Mc Carty, 1995).

În privinţa autoreglării nodulării, a fost caracterizată o mutantă la *Lotus hypernodula* har 1-ceea ce sugerează că reglarea numărului nodulilor este parte integrantă a mecanismelor care controlează dezvoltarea rădăcinilor laterale (Wopereis şi al., 2000).

Factori genetici implicaţi în fixarea simbiotică a N_2 şi importanţa practică a cunoaşterii acestora

Având în vedere existenţa ca organisme libere, dar şi ca organit, *Rhizobium* trebuie să fie capabil să-şi modifice programul genetic. Multe dintre genele necesare pentru nodulare şi fixare a azotului sunt situate într-o plasmidă circulară, mare, denumită plasmida Sym (de la simbioză). În cadrul acestei plasmide se găsesc genele nod, implicate în specificitatea infecţiei şi formarea nodulilor.

În ceea ce priveşte funcţiile biochimice ale produşilor genei nod, acestea nu sunt pe deplin elucidate. În cazul *Rhizobium*, un caz particular este gena nod D, care pare a fi sub influenţa directă a flavonelor/ izoflavonelor şi care reglează şi alte gene ale complexului " nod". Toate rizobiile recunosc spectrul străin al (izo) flavonoizilor, ca inductori sau antiinductori. Descrierea unor mutante ale genelor nod, care mutante blochează diferite stadii ale infecţiei şi nodulării a permis zonarea genelor nod în două regiuni distincte în cadrul plasmidei Sym, corespunzător " genelor comune " şi " genelor cu specificitate de gazdă ". Ultimele funcţionează numai în cazul particular al unei gazde.

Genele implicate în fixarea azotului, care de fapt devin active în timpul ultimelor stadii ale dezvoltării nodulilor sunt denumite fie ***gene nif,*** fie ***gene fix***. În cadrul acestei categorii sunt incluse genele structurale pentru nitrogenază, precum şi un număr de gene regulatoare. Genele ***nif H*** codifică subunitatea - proteină cu Fe, iar genele ***nif D şi nif K*** codifică subunităţile alfa şi beta şi respectiv proteina cu MoFe.

Referitor la ***genele fix***, o posibilă funcţie este biosinteza hemului. Precursorul hemului este acidul γ-aminolevulinic (ALA). Mutaţiile în genele *Rhizobium* pentru sinteza ALA provoacă producerea nodulilor albi, incapabili de fixarea azotului. Totodată, deosebit de importantă este

interacţiunea dintre genele Nod ale plantei şi genele *nod*, *nif* şi *fix* ale bacteriei. Cum anume are loc coordonarea complexelor procese de infecţie şi dezvoltare a nodulilor este încă un subiect deosebit de fascinant.

Continuarea studiilor în acest domeniu se impune nu doar strict din punct de vedere teoretic, ci trebuie evidenţiată însăşi importanţa practică. Cercetătorii vor fi capabili să mărească spectrul plantelor capabile pentru acest proces, cuprinzând şi alte specii (de exemplu cereale). Astfel, pe lângă creşterea productivităţii pe terenurile mai slab aprovizionate cu azot, este util a se reduce dependenţa agriculturii de îngrăşămintele chimice cu azot, pentru a căror producere se consumă o cantitate enormă de energie.

Privitor la posibilitatea determinării eficienţei nitrogenazei, deoarece este foarte costisitor a determina în mod direct fixarea N_2, se poate estima activitatea nitrogenazei prin gaz cromatografie. Se apelează la reacţia de reducere a acetilenei, la etilenă, reacţie care implică 2 electroni (faţă de 8 necesari pentru reducerea azotului molecular) şi 2 H^+.

Determinarea reducerii acetilenei este valabilă pentru studii comparative. Oentru determinări cantitative precise privind fixarea azotului este absolut necesară măsurarea directă a N_2 redus, prin mass spectroscopie. Calculele privitoare la consumul energetic pentru fixarea azotului molecular au demonstrat că se consumă 12 g carbon organic, pentru 1 gram N_2 fixat.

5.5.3. Asemănări şi deosebiri structurale şi funcţionale dintre simbiozele arbuscular-micorhizale şi noduli

Între micorize şi bacteriorize există asemănări, dar şi deosebiri (*fig. 5.23.*), dintre care amintim:

● celulele parenchimului cortical constituie locul pentru dezvoltarea micorizelor arbusculare şi al organogenezei nodulilor;
● o membrană derivată din plantă înconjoară interfaţa fiziologic activă dintre simbionţi, în cazul ambelor sisteme;
● flavonoizii care elicitează genele nod rizobiale favorizează creşterea hifelor la ciupercile micorizante arbusculare şi probabil mediază un factor Nod - inducând stimularea colonizării rădăcinii.

Ca urmare a similitudinilor existente, ca şi a legăturilor strânse dintre anumite gene care determină nodularea şi formarea micorizelor arbusculare la legume, se scoate în evidenţă existenţa unor mecanisme comune, care guvernează cel puţin o parte a interacţiunilor în cazul celor două tipuri de simbioze.

În ciuda asemănărilor existente, există totuşi importante ***deosebiri***. Spre exemplu, un număr de genotipuri de legume non-nodulante sunt capabile să formeze micorize. Anumite componente ale firului de infecţie pentru nodulare nu sunt sintetizate în jurul simbiontului fungic, în rădăcinile micorizale (Perotto şi al., 1994). Semne ale simbiozelor micorizal arbusculare au fost înregistrate în fosile, înainte de evoluţia speciilor de legume. Aceasta pune în discuţie interesanta posibilitate ca pe parcursul evoluţiei, rhizobiile să fi putut exploata procesele din plante implicate în interacţiunile simbiotice cu ciuperci micorizal arbusculare şi le-au modificat, pentru un cu totul alt scop, acela al dezvoltării nodulilor (Gollotte şi al., 1995).

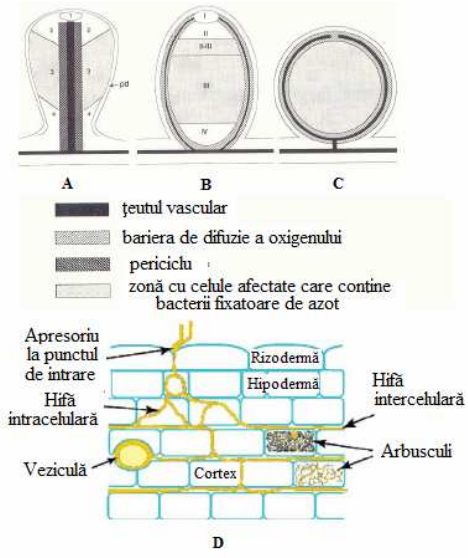


Fig. 5.23. Structura nodulului şi a micorizei: A. Nodul actinorhizal – pd. Periderm; B. Nodul nedeterminat la leguminoase; C. Nodul determinat la leguminoase; D. Structura micorizei. (după Diouf şi al., 2003)

Întrebări

1. Ce se înţelege prin element mineral absolut necesar, dar element mineral util ? Daţi exemple.
2. Ce reprezintă o soluţie nutritivă minerală artificială şi care este importanţa teoretică şi practică a acesteia ? Exemple.
3. Ce este rizosfera şi ce importanţă prezintă semnalizarea moleculară la acest nivel ?
4. Ce rol fiziologic au elementele minerale în viaţa plantei ?
5. Micorizele: definiţie, tipuri, importanţă practică.
6. Fixarea biologică a azotului molecular: mecanism şi importanţă practică.

Bibliografie selectivă

Arnon D. I. şi Stout P. R. 1939. The essentiality of certain elements in minute quantity for plants with special reference to copper. Plant Physiol., Vol. 14: 371–375.

Badri, D.V., Weiser, T.L., van der Lelie, D., Vivanco, J.M. 2009. Rhizosphere chemical dialogues: plant-microbe interactions. Current Opinion in Biotechnology, Vol. 20: 642-650.

Burzo, I., Delian Elena, Crăciun, C. 2000. Ultrastructural changes induced by the physiological disorders fruits and vegetables, Acta Horticulturae, Vol. 553: 255-256.

Bonfante-Fasolo, P. şi Perotto, S. 1992. Plant and endomycorrhizal fungi: the cellular and molecular basis of their interaction. In Molecular Signals in Plant-Microbe Communications. Editor Desh Pal S. Verma.

Cartmill, A.D. şi al. 2008. Arbuscular mycorrhizal fungi enhance tolerance of vinca to high alkalinity in irrigation water. Scientia Horticulture, Vol. 115: 275- 284.

Dakora, F.D. şi Phillips, D.A. 2002. Root exudates as mediators of mineral aquisition in low-mineral environments. Plant and Soil, Vol.245: 35- 47.

Delian Elena, Geuns, J.C.M., Voican Ana Viorica. 1996. Variaţia conţinutului în poliamine şi acizi graşi în merele sănătoase şi afectate de unele dereglări fiziologice. Studii şi Cercetări de Biologie. Ed. Academiei Române, Vol.48: 65-69.

Epstein, E. 1972. Mineral Nutrition of Plants: Principles and Perspectives. Wiley, New York.

Epstein, E. şi Bloom, A.J. 2005. Mineral nutrition of plants: Principles and Perspectives, Second Edition. Sinauer, Sunderland, Massachusetts.

Fester, T., Lohsea, S. şi Halfmanna, K. 2007. Chromoplast development in arbuscular mycorrhizal roots. Phytochemistry, Vol. 68: 92- 100.

Finlay, R.D. 2004. Mycorrhizal fungi and their multifunctional roles. Mycologist , Vol. 18: 91 – 96.

Giehl, R.FH., Meda, A.R., von Wirén, N. 2009. Moving up, down and everywhere: signaling of microelements in plants. Current Opinion in Plant Biology, Vol. 12: 320-327.

Gierth, M., Mäser, P. 2007. Potassium transporters in plants – involvement in K^+ acquisition and homeostasis. FEBS Letters, Vol. 581: 2348-2356.

Hause, B., Schaarschmidt. 2009. The role of jasmonates in mutualistic symbioses between plants and soil-born microorganisms. Phytochemistry, Vol.70: 1580-1599.

Hirsch, A.M. şi al. 2001. What makes the Rhizobia – Legume symbiosis so special. Plant Physiology, Vol 127: 1484- 1492.

Lester, G.E., Jifon, J.L., Makus, D.J. 2010. Impact of potasium nutrition on food quality of fruit and vegetables: a condensed and concise review of literature. Better Crops, Vol. 94: 18-21.

Maathuis, F.JM. 2009. Physiological functions of mineral macronutrients. Current Opinion in Plant Physiology, Vol. 12: 250-258.

Marcelle, R.D. 1990. Prediciting storage quality from preharvest fruit mineral analysis, a review. Acta Hort. , Vol. 274: 305- 313.

Miller, A.J. şi Cramer, M.D. 2004. Root nitrogen aquisition and assimilation. Plant and Soil, Vol. 274: 136.

Minorsky, P.V. 2002. Trigonelline: A diverse regulator in plants. Plant Physiology, Vol. 128: 7- 8.

Selosse, M.A. şi al. 2006. Mycorrhizal networks: des liaisons dangereuses? Trends in Ecology and Evolution, Vol. 21: 621 – 628.

Shenoy, V.V. , Kalagugi, G.M. 2005. Enhancing plant phosphorus use efficiency for sustainable cropping. Biotechnology Advances, Vol.23: 501-613.

Reinhart, D. 2007. Programming good relations development of the arbuscular mycorrhizal symbiosis. Current Opinion in Plant Biology, Vol. 10: 98- 105.

Rost, T.L. şi Bloom, A.J. 2006. Root structure and function. Annals of Botany, Vol. 97: 837-838.

Zamfirache Maria Magdalena şi Toma C. 2000. Simbioza în lumea vie. Ed. Univ. Alexandru Ioan Cuza.

PARTEA II

CAPITOLUL 6

NUTRIŢIA CU CARBON LA PLANTE

Cuvinte cheie: *plante autotrofe, plante heterotrofe, plante mixotrofe, fotosinteza, cloroplast, pigmenţi clorofilieni, pigmenţi carotenoizi, radiaţii luminoase fotosintetic active, faza de lumină, faza enzimatică, RUBISCO, plante C_3, plante C_4, plante CAM, fotorespiraţie, punct de compensaţie pentru lumină, punct de compensaţie pentru CO_2, recolta biologică, recolta agricolă*

Obiective:
- descrierea tipurilor de nutriţie cu carbon la plante;
- cunoaşterea şi înţelegerea procesului de fotosinteză;
- cunoaşterea factorilor externi şi interni care influenţează intensitatea fotosintezei; importanţa practică a acestor cunoştinţe;
- cunoaşterea şi înţelegerea procesului de fotorespiraţie;
- înţelegea interrelaţiei dintre fotosinteză şi recoltă;

REZUMAT

Plantele îşi pot asigura nutriţia cu carbon pe baza a trei tipuri de nutriţie: autotrofă, heterotrofă şi mixotrofă. Fotosinteza sau asimilaţia clorofiliană este procesul complex, prin care plantele autotrofe verzi sintetizează primii compuşi organici (trioze), din substanţe anorganice (dioxid de carbon, apă şi săruri minerale) în prezenţa radiaţiilor luminoase captate de pigmenţii asimilatori (în special clorofilă), proces în urma căruia se pune în libertate oxigen. Organul specializat pentru fotosinteză este frunza, datorită particularităţilor sale structurale şi funcţionale. La nivel celular, fotosinteza se desfăşoară în cloroplaste, organite specializate pentru acest proces. În cloroplast se găsesc pigmenţii asimilatori (clorofilieni şi carotenoizi) care au rol în captarea energiei luminoase provenită de la soare şi în transformarea acesteia în energie biochimică potenţială. Radiaţia luminoasă fotosintetic activă include radiaţiile spectrului luminos vizibil, cu lungimea de undă cuprinsă între 400 şi 700 nm. În privinţa mecanismului fotosintezei sunt descrise două faze: faza dependentă de lumină, care se desfăşoară în tilacoidele cloroplastului şi faza enzimatică, care se desfăşoară în stroma cloroplastului. Enzima cheie a acestui proces este ribulozo 1,5 bis- fosfat carboxilaza-oxigenaza (RUBISCO). În funcţie de modul de desfăşurare a fazei enzimatice se disting plante de tip C_3, plante de tip C_4 şi plante CAM. Fotorespiraţia reprezintă procesul eliberării de CO_2, dependent de lumină, proces caracteristic celulelor fotosintetic active şi care diferă în multe privinţe de producerea de CO_2 şi consumul de O_2 care au loc în mitocondrie. Procesul de fotosinteză este influenţat de numeroşi factori interni (pigmenţi asimilatori, factori care ţin de caracteristicile protoplastului, structura şi vârsta frunzelor, acumularea de fotoasimilate în relaţie cu cerinţele pentru acestea, conţinutul în elemente minerale al frunzelor, hormoni etc.), precum şi de factori externi (lumina, temperatura, concentraţia CO_2, concentraţia O_2, starea solului în ceea ce priveşte prezenţa apei şi a elementelor minerale, prezenţa unor poluanţi în sol şi aer etc.). Fotosinteza stă la baza producţiei biologice. Agronomii sunt preocupaţi de productivitatea economică a părţilor plantei, nu doar de masa totală a plantei. Recolta agricolă este partea valoroasă, utilă din punct de vedere economic: producţia economică $ha^{-1}an^{-1}$ (masa proaspătă – seminţe, fructe, plante furajere etc.). Recolta biologică sau totală este dată de fotosinteza reală (biomasă), din care se scad pierderile. Deoarece producerea recoltei şi sporirea producţiei economice nu corespund întotdeauna cu profitabilitatea, cercetările în domeniu trebuie direcţionate către obţinerea unei producţii mari, de calitate şi acceptabilă economic.

6. 1. Tipuri de nutriţie cu carbon la plante

Compuşii organici (alcătuiţi în principal din trei elemente: carbon, hidrogen şi oxigen) reprezintă circa 95% din masa uscată a ţesuturilor vegetale. Nutriţia cu carbon la plante constituie un subiect de interes deosebit.

Din punct de vedere a modului în care plantele îşi asigură nutriţia cu carbon (sau obţin substanţele organice) se disting **trei tipuri de nutriţie**:

I. Nutriţia autotrofă este caracteristică plantelor care pot realiza sinteza de substanţe organice folosind ca materii prime substanţe anorganice. Desigur, pentru a se realiza sinteza acestora este nevoie de energie. În funcţie de tipul de energie folosit, plantele autotrofe se împart în două grupe:
1) – *plante autotrofe fotosintetizante*, adică acelea care posedă pigmenţi fotoasimilatori şi care folosesc energia provenită din radiaţiile luminoase;
2) – *plante autotrofe chimiosintetizante*, adică acele plante care folosesc energia provenită din descompunerea unor substanţe.

II. Nutriţia heterotrofă este caracteristică plantelor care utilizează compuşi organici simpli, proveniţi din organisme vegetale şi animale vii sau moarte. Prin urmare, astfel de plante pot fi:
1) – *plante heterotrof saprofite*, care au capacitatea ca prin intermediul enzimelor să descompună organisme vegetale şi animale moarte şi să utilizeze ca hrană compuşi organici simpli;
2) – *plante heterotrof parazite*, care absorb compuşi organici simpli din organisme vegetale şi animale vii. Spre deosebire de prima categorie (mai ales bacterii şi ciuperci), în acest grup pe lângă acele plante inferioare sunt şi plante superioare, precum *Cuscuta*, *Orobanche*, *Lathraea* etc.

III. Nutriţia mixotrofă sau mixtă, care cuprinde:
1) – *plante mixotrof semiparazite*: de exemplu, *Vâscum album*, care absoarbe apa şi sărurile minerale din vasele lemnoase ale pomilor, dar realizează şi procesul de fotosinteză;
2) – *plante mixotrof carnivore* (ex. *Drosera*, *Nepenthes*, *Dionaea*), care pe lângă realizarea procesului de fotosinteză îşi completează necesarul de azot, cu aminoacizii absorbiţi din insectele capturate şi descompuse cu ajutorul enzimelor.

6. 2. Fotosinteza

6.2.1. Definiţie, ecuaţie generală, importanţă

Fotosinteza sau asimilaţia clorofiliană *este procesul complex prin care plantele autotrofe verzi sintetizează primii compuşi organici* (trioze), *din substanţe anorganice* (dioxid de carbon, apă şi săruri minerale) *în prezenţa radiaţiilor luminoase captate de pigmenţii asimilatori* (în special clorofilă), *proces în urma căruia se pune în libertate oxigen.*

Ecuaţia generală a fotosintezei este redată în *figura 6.1*.

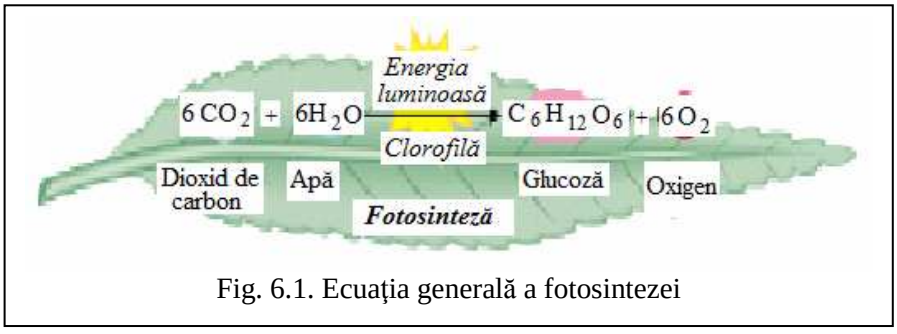


Fig. 6.1. Ecuaţia generală a fotosintezei

Importanţa fotosintezei reiese din analiza componentelor ecuaţiei generale:

1) ● se utilizează dioxidul de carbon, permiţând menţinerea unei concentraţii relativ constante în atmosferă de 0,03 % (300 ppm);

Se estimează că anual, prin procesul de fotosinteză se fixează circa $75*10^{12}$ kg de carbon (sub formă de CO_2), producându-se 1700 milioane tone de substanţă uscată.

2) ● se produce oxigen, absolut necesar vieţii, iar concentraţia acestuia în atmosferă se menţine la circa 21%;

Raportul dintre volumul de oxigen eliberat în fotosinteză şi cel de oxigen utilizat în procesul de respiraţie pe parcursul unei zile este de 10:1.

3) ● se utilizează energia solară, inepuizabilă, într-un proces specific doar plantelor, prin care ele îşi pregătesc propria lor hrană;

4) ● se asigură hrană pentru toate organismele vii;

5) ● rezultă întâi glucide simple (trioze) şi ulterior sunt transformate în alte categorii de substanţe, precum: lipide, proteine, acizi nucleici, alţi compuşi organici (unele sunt utile în industria farmaceutică, a parfumurilor, a băuturilor etc.; substanţele de rezervă din plante:- glucide, lipide, proteine - surse importante pentru alimentaţia omului, animalelor);

6) ● lemnul se foloseşte în industria construcţiilor, combustibililor, papetăriei etc.;

7) ● fotosinteza asigură substrat pentru respiraţie, iar energia eliberată în cursul acestui proces este utilizată pentru desfăşurarea a diferite procese metabolice.

6.2.2. Sediul fotosintezei la nivelul plantei şi la nivel celular

Procesul de fotosinteză se desfăşoară în ţesuturile verzi ale plantei (frunze, cotiledoane, muguri, tulpini, rădăcini aeriene, flori, fructe), expuse la lumină, dar, ***organul specializat este frunza***. La nivel celular, fotosinteza se desfăşoară în ***cloroplaste, organite specializate*** pentru acest proces.

Frunza este organul specializat pentru fotosinteză, datorită unor *particularităţi anatomice şi funcţionale*, dintre care amintim:

- suprafaţă mare de contact cu aerul atmosferic şi grosime redusă, ceea ce favorizează absorbţia unor cantităţi mari de dioxid de carbon şi energie luminoasă;
- prezenţa la nivelul epidermei frunzelor a unui număr de stomate, facilitându-se pătrunderea dioxidului de carbon şi în general schimbul de gaze;
- structură bifacială, care permite difuzia uşoară a dioxidului de carbon până la celulele asimilatoare (C_3) sau Kranz (C_4);
- un sistem fascicular bogat, care asigură pe de o parte materiile prime pentru desfăşurarea fotosintezei şi pe de altă parte transportul fotoasimilatelor;
- prezenţa în celulele frunzelor a cloroplastelor, organite specializate pentru desfăşurarea fotosintezei (*fig. 6.2.*).

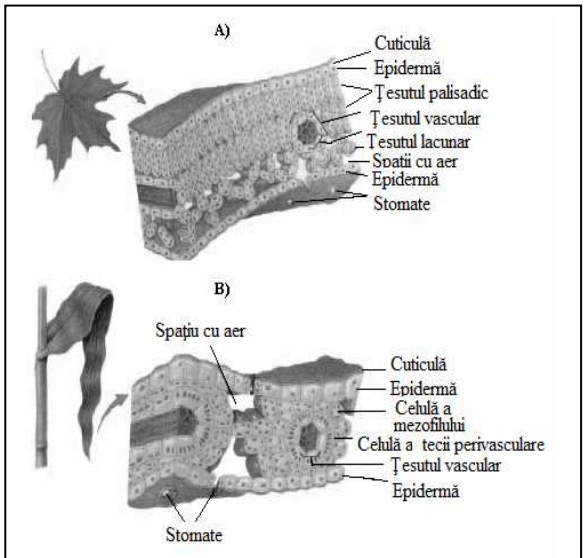


Fig. 6.2. Diagrama frunzei la dicotiledonate (A) şi monocotiledonate (B)

Cloroplastele sunt organite specializate, adevărate uzine biosintetice. Adaptările lor sunt legate de suprafeţele mari ale membranelor tilacoide şi de prezenţa pigmenţilor asimilatori (*fig.6.3.*).

De reamintit faptul că, din punct de vedere structural, cloroplastele sunt înconjurate de o membrană dublă lipoproteică: la exterior este o membrană lipoproteică netedă, iar membrana lipoproteică internă prezintă numeroase pliuri denumite tilacoide.

Pigmenţii asimilatori (clorofile, caroteni şi xantofile) şi proteinele (transportoare de electroni, pompe de protoni etc.) sunt localizate în tilacoide, unde se desfăşoară faza dependentă de lumină. La nivelul fluidului central denumit stromă se desfăşoară faza independentă de lumină (faza enzimatică).

6.2.3. Condiţii prioritare pentru desfăşurarea fotosintezei

Printre condiţiile de bază necesare desfăşurării fotosintezei amintim: pigmenţii asimilatori, lumina, apa, dioxidul de carbon etc.

6.2.3.1. Pigmenţii asimilatori

A) Tipuri de pigmenți asimilatori

Pigmenţii asimilatori sunt molecule organice complexe colorate. Datorită dublelor legături conjugate, în cadrul unui sistem biologic ei absorb energia luminoasă din regiunea vizibilă a spectrului elecromagnetic şi o transformă într-o formă de energie chimică.

La plantele superioare, pigmenţii asimilatori sunt reprezentaţi de două categorii:

►*pigmenţii clorofilieni* sau verzi (clorofila a şi clorofila b);

►*pigmenţii carotenoizi* sau galbeni (în principal caroteni şi xantofile).

Structural, o **moleculă de clorofilă constă dintr-un cap şi o coadă** (asemănătoare unei spatule) (*fig. 6.3.*). Capul constă din nucleul tetrapirolic şi un inel izopentil carbon dispus sub formă ciclică. În centrul nucleului tetrapirolic se află atomul de magneziu. De scheletul porfirinic, la al 7-lea carbon se leagă coada sau fitolul ($C_{20}H_{39}OH$). Aceasta este o componentă hidrofobă (alcoolul unei hidrocarburi superioare), care conţine o dublă legătură.

● *clorofila a* : $C_{55}H_{72}O_5N_4Mg$ - prezintă la carbonul 3 o grupare metil (CH_3) şi este larg răspândită în organismele producătoare de oxigen.

● *clorofila b* : $C_{55}H_{70}O_6N_4Mg$ - are în locul grupării metil o grupare aldehidică (CHO) şi este prezentă la alge verzi, briofite şi angiosperme.

În general, raportul clorofilă a/ clorofilă b este de 3/1, dar creşte la plantele iubitoare de lumină.

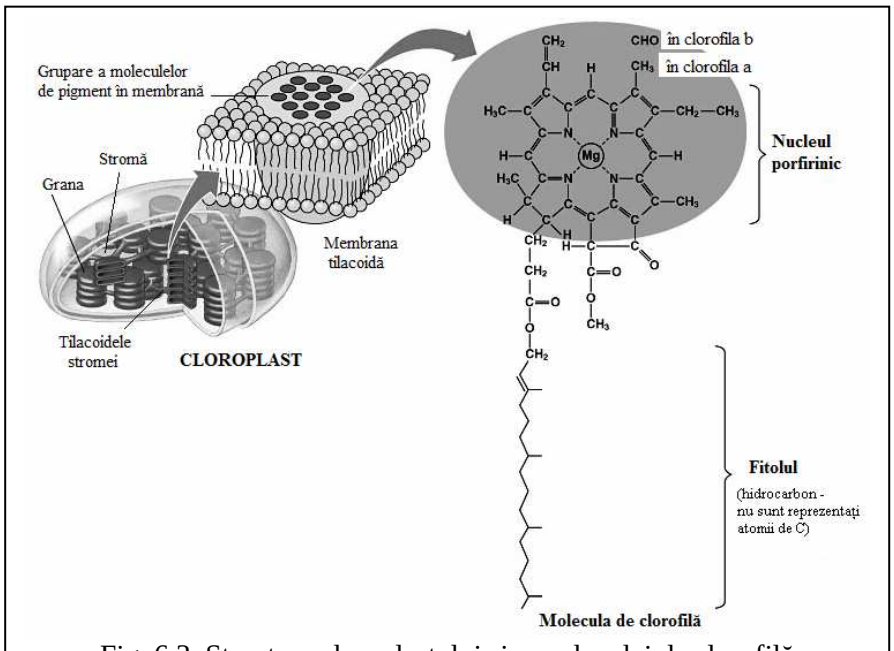


Fig. 6.3. Structura cloroplastului şi a moleculei de clorofilă

Carotenoizii sunt reprezentaţi de: caroteni şi xantofile.

Carotenul are culoarea portocaliu, cu formula $C_{40}H_{56}$ şi mai abundenţi sunt α şi β carotenul. Carotenii sunt hidrocarburi nesaturate, constituite numai din carbon şi hidrogen. Diferă doar prin modul de aranjare în spaţiu a moleculelor lor.

Xantofilele sunt derivaţi ai carotenului, caracterizate prin prezenţa oxigenului ($C_{40}H_{56}O_2$). Exemple de xantofile: luteina, zeaxanthina, violaxanthina. Au culoare galbenă şi se află în cantitate mai mare în membrane, comparativ cu carotenii. În frunzele tinere, raportul caroten: xantofile este de 1:2.

După activitatea specifică: sunt pigmenţi asimilatori cu rol în captarea energiei luminoase, dar fotochimic inactivi (cromofori antenă) şi pigmenţi asimilatori fotochimic activi, localizaţi în centrele de reacţie. Carotenoizii, pe lângă rolul de pigmenţi antenă, un rol deosebit le revine în fotoprotecţie, evitându-se fotooxidarea clorofilei.

B) Biosinteza pigmenților asimilatori

Biosinteza pigmenţilor asimilatori se realizează prin cicluri biochimice diferite şi la nivelul unor situsuri specifice. Astfel:

- ***pigmenţii clorofilieni*** *se biosintetizează în cloroplaste, în cadrul ciclului acidului γ – aminolevulinic;*
- ***pigmenţii carotenoizi*** *se biosintetizează în cloroplaste şi cromoplaste, prin ciclul acidului mevalonic.*

► Pentru ***biosinteza clorofilei****, o primă fază* constă în conversia acidului glutamic, la acidul 5- aminolevulinic (ALA) (prin legarea de o moleculă de ARN_t). Din două molecule de acid γ-aminolevulinic se formează o moleculă de porfobilinogen (PBG), iar 4 astfel de molecule vor forma nucleul tetrapirolic – protoporfirina IX. Până la această etapă, procesele sunt similare în cazul hemului. Apoi, în cazul clorofilei se inseră Mg, iar în cazul hemului se inseră Fe.

Următoarea fază este formarea inelului 5 (E) prin ciclizarea unuia dintre lanţurile acidului propionic, pentru a forma protoclorofilida. Calea implică reducerea uneia dintre legăturile duble ale inelului D, folosindu-se $NADPH^+ + H^+$. La angiosperme, procesul este realizat cu ajutorul luminii şi este catalizat de enzima *protoclorofilid oxidoreductaza* (POR). Bacteriile care nu produc oxigen realizează reacţia fără lumină, folosind un set diferit de enzime. Cianobacteriile, algele, plantele inferioare şi gimnospermele conţin ambele căi (calea POR dependentă de lumină şi calea independentă de lumină). Plantele angiosperme crescute la întuneric nu au clorofilă, deoarece enzima POR necesită lumină. La lumină, aceste plante etiolate devin repede verzi.

Etapa finală în biosinteza clorofilei este ataşarea cozii – fitolului. Procesul este catalizat de enzima clorofil sintetază (Malkim şi Nyogi, 2000).

Clorofila suferă un proces continuu de biosinteză şi biodegradare, reînnoindu-se într-un ritm de 40% în 2-3 zile.

►***Biosinteza carotenoizilor*** se realizează prin ciclul acidului mevalonic, din acetil CoA, cu parcurgerea unor etape intermediare. Precursorul este deci acidul mevalonic. Acesta este transformat în geranil geranil pirofosfat, printr-o secvenţă de reacţii ciclice, cunoscută sub numele de ciclul terpenoid. Dintre compuşii intermediari se pot aminti: acidul mevalonic, izopentil pirofosfat, geranil pirofosfat, fitoen, licopen şi caroten. Geranil geranil pirofosfatul reprezintă precursorul imediat al carotenilor. Procesul este codificat de genele nucleare *PSY 1, PDS, LYC* etc. Prin încorporarea unei molecule de oxigen la caroten, se formează xantofila. Pentru sinteza carotenoizilor nu este necesară lumina.

▲ *Biosinteza pigmenţilor asimilatori este influenţată de factori* precum: lumina (care acţionează prin intermediul fitocromului şi criptocromului, inducând transcripţia genelor Lhcb care codifică biosinteza enzimelor implicate în sinteza clorofilei), temperatura (de exemplu, temperatura optimă pentru sinteza clorofilei este $26\text{-}28^0$C; pentru licopen $16\text{-}22^0$C; pentru caroten $25\text{-}29^0$C), oxigenul (necesar pentru desfăşurarea reacţiilor de oxidare, care au loc în cursul biosintezei clorofilei şi carotenoizilor), substanţele minerale (spre exemplu N, Mg) etc.

C. Proprietăţile pigmenţilor asimilatori

Pigmenţii asimilatori se caracterizează prin diferite proprietăţi fizice şi chimice specifice.

Dintre *proprietăţile fizice* se pot aminti:

● absorbţia energiei luminoase, care este folosită în desfăşurarea fazei dependente de lumină;

● solubilitatea în solvenţi organici: acetonă, alcool, eter de petrol, benzen etc.;

● culoare diferită: *clorofila a* este verde albăstruie; *clorofila b* este verde gălbuie; *carotenul* este portocaliu; *xantofila* este galben-portocalie;

● fluorescenţa – proprietatea clorofilei de a absorbi radiaţiile luminoase cu lungime de undă mică şi încărcătură energetică mare (de exemplu albastre, cu lungimea de undă în jur de 400 nm) şi de a emite fotoni cu lungime de undă mare şi încărcătură energetică mică (de exemplu roşii, cu lungimea de undă în jur de 700 nm);

● foto-oxidarea reprezintă reacţia de descompunere a moleculei de clorofilă sub acţiunea luminii (carotenoizii însă sunt mai stabili din acest punct de vedere).

Dintre *proprietăţile chimice* amintim:

● reacţia cu bazele, ceea ce conduce la descompunerea clorofilei şi formarea clorofilinelor;

● reacţia cu acizii minerali şi formarea feofitinei (de culoare brună), deoarece magneziul din molecula de clorofilă este înlocuit cu hidrogenul din acid.

6.2.3.2. Lumina

Lumina este o condiţie de bază pentru desfăşurarea fotosintezei, din mai multe considerente.

Lumina intervine în desfăşurarea fazei de lumină, când energia luminoasă este transformată în energie biochimică potenţială.

Lumina este implicată în procesul de sinteză a enzimelor care intervin în fotosinteză. Spre exemplu, prin intermediul fitocromului şi a criptocromului se induce transcripţia care codifică biosinteza enzimei cheie a fotosintezei – RUBISCO şi a proteinelor din antenele fotoreceptoare.

Lumina este un factor determinant în biosinteza clorofilei.

Pentru a înţelege relaţia pigmenţi asimilatori – lumină – desfăşurarea fotosintezei, se vor aborda câteva aspecte generale privind lumina.

Lumina albă este alcătuită din totalitatea radiaţiilor care alcătuiesc spectrul vizibil ROGVAIV (*fig. 6.4.*), cu lungimea de undă de la circa 700 nm, la circa 400 nm. Deci, lumina considerată ca o undă se caracterizează printr-o lungime de undă şi o frecvenţă. Energia unui foton depinde de lungimea de undă, fiind invers proporţională cu aceasta. Astfel, un foton cu λ de 400 nm are de 2 ori energia unui foton cu λ de 800 nm din infraroşu. Unitatea de măsură a cantităţii poate fi moli $m^{-2}s^{-1}$ unde „moli” se referă la numărul de fotoni (1 mol de lumină = 6,02 * 1023 fotoni, numărul lui Avogadro).

Radiaţia fotosintetic activă (PAR) reprezintă regiunea spectrului electromagnetic care induce fotosinteza şi include radiaţiile cu lungimea de undă cuprinsă între 400 şi 700 nm. Modul de exprimare în fiziologie este densitatea fluxului fotonilor fotosintetici (PPFD) sau PPF (deoarece “densitate” înseamnă cu totul altceva).

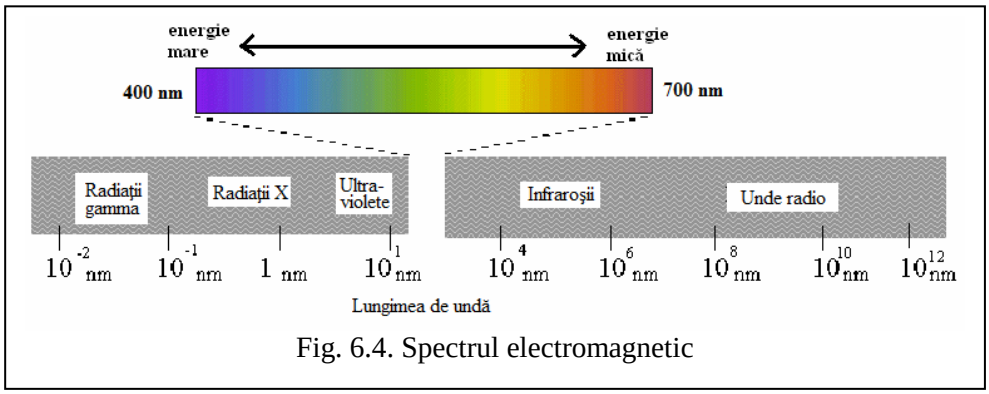


Fig. 6.4. Spectrul electromagnetic

Într-o zi însorită, PAR se situează în jur de 2000 µmoli $m^{-2}s^{-1}$ (valori mai mari pot fi măsurate la altitudini mari). Valoarea corespunzătoare în unităţi de energie este circa 400 W m^{-2} [1W = 1 joule (J) s^{-1}] .

Coeficientul de utilizare a energiei luminoase

Cunoştinţele privind interceptarea şi absorbţia luminii sunt fundamentale pentru înţelegerea multor aspecte ale creşterii şi productivităţii plantelor (Rosati şi al., 2001).

În general, din lumina completă (100%) incidentă pe faţa superioară a frunzei este absorbită doar o parte (70%), iar din restul (30%) o parte (20%) este reflectată şi o altă parte (10%) trece prin frunză (lumină transmisă). Din total lumină absorbită (70%), 20% este pierdută prin disipare termică, 45-49% este emisă sub formă de fluorescenţă şi doar în proporţie de 1-5% rămâne a fi folosită în fotosinteză (radiaţia luminoasă ce va fi transformată în energie biochimică potenţială) (*fig. 6.5.*). Cantitatea de lumină folosită în fotosinteză se denumeşte *coeficient de utilizare a energiei luminoase* şi aceasta variază cu specia (de exemplu: sfeclă 2,1; ovăz 3,3; porumb 4,5). Agrawal (2010) a propus conceptul denumit – contanta solară fotosintetică, care exprimă valoarea energiei produsă sub formă de biomasă, prin intermediul motorului fotosintetic, folosind banda vizibilă, prezentă în constanta solară standard (1340 W m^{-2}), în condiţii ideale. Valoarea sa este estimată la 70 W m^{-2}, corespunzător la un echivalent al biomasei de 4,5 x 10^{-6} kg m^{-2} s^{-1}.

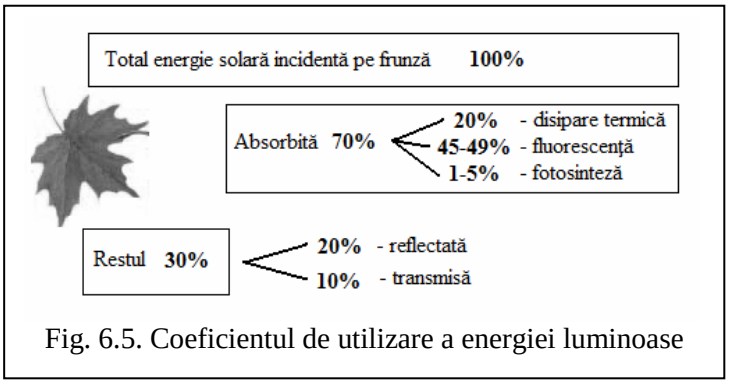


Fig. 6.5. Coeficientul de utilizare a energiei luminoase

Fotoprotecţia la plante

Plantele au o relaţie de “dragoste”/”ură” cu lumina (Müller şi al., 2001). Ca organisme fotosintetizante ele necesită lumină pentru a trăi, dar, prea multă lumină poate provoca creşterea producerii speciilor reactive de oxigen, cu efecte dăunătoare. Pentru desemnarea reducerii capacităţii fotosintetice indusă de expunerea la un exces de lumină s-au folosit diferiţi termeni: fotoinhibiţie, fotooxidare, fotoinactivare, fotolabilitate, solarizare şi reacţii fotodinamice (Krause, 1988), dar mai frecvent în ultimii ani se foloseşte termenul *fotoinhibiţie*.

Consecinţele fotoinhibiţiei sunt:

- reducerea eficienţei fotosintezei pentru absorbţia CO_2 şi eliberarea O_2;
- scăderea convexităţii curbei fotosintezei ca răspuns la lumină;
- reducerea activităţii fotochimice a fotosistemului II etc.

În privinţa răspunsului plantelor la o cantitate excesivă de energie luminoasă, dacă în urmă cu circa 20 de ani se accepta ideea că succesul plantelor în mediul lor de viaţă este susţinut de strategiile care maximizează rata procesului de fotosinteză, astăzi, acest punct de vedere pare depăşit. Ort (2001) preciza că reglarea fotosintezei, ca răspuns la factorii mediului înconjurător este dinamică şi este dominată de un proces fotoprotectiv, respectiv aşa numita *disipare termică non-fotosintetică* a luminii absorbite.

Numeroase studii au reliefat că în mod frecvent, peste jumătate din energia luminoasă absorbită de clorofila dispusă în cadrul fotosistemului II la frunzele sănătoase, poate fi redirecţionată, printr-un proces care operează în acest fotosistem, conducând la eliberarea excesului fluxului fotonilor sub formă de căldură. Acest proces de *disipare termică* se află în competiţie cu emisia de fotoni cu lungime de undă mare (prin *fluorescenţă*) şi cu consumul în cadrul reacţiilor fotochimice (*fotosinteză*).

Carotenoizii, pe lângă rolul lor în captarea energiei luminoase şi transmiterea acesteia moleculelor de clorofilă, au rol în **protecţia clorofilei** împotriva foto-oxidării, la intensitate luminoasă mărită.

În cursul fotosintezei, moleculele de clorofilă devin excitate şi se combină cu oxigenul molecular formând complexul clorofilă oxigen, care permite inactivarea moleculelor de clorofilă, urmată de distrugerea lor. Dar, rareori are loc foto-oxidarea, deoarece în general, moleculele de clorofilă activate revin la starea de bază, prin fluorescenţă sau participarea efectivă la fotosinteză. În privinţa efectelor protectoare ale carotenoizilor (non-epoxi), aceştia se leagă de complexul clorofilă-oxigen şi formează un derivat epoxid, eliberând moleculele de clorofilă. Prin urmare, carotenoidul însuşi devine oxidat. Carotenoidul non-epoxi poate fi regenerat din derivatul său epoxi, printr-o reacţie la întuneric, catalizată de enzima carotenoid deepoxidaza.

Importanţa ciclului xantofilei a devenit mai clară în ultimii ani (Szabo şi al., 2005). Cel mai abundent pigment din categoria xantofilelor în tilacoide este luteina, dar se află de asemenea violaxantina (Vio), un derivat al β-carotenului. Vio este sintetizată din zeaxantină, pe calea anteraxantin, în condiţii de iluminare slabă, prin activitatea zeaxantin epoxidazei. La lumină intensă scade pH-ul în lumen şi la o valoare critică, violaxantin de-epoxidaza transformă violaxantina, înapoi la zeaxantină. Ultima este absentă în membranele tilacoidale, în condiţii normale de lumină.

Scăderea pH-ului în lumen activează interconversia pigmenţilor de tip xantofile, în timp de minute, ca parte a ciclului xantofilei, aşa cum se remarcă în *fig.6.6.*

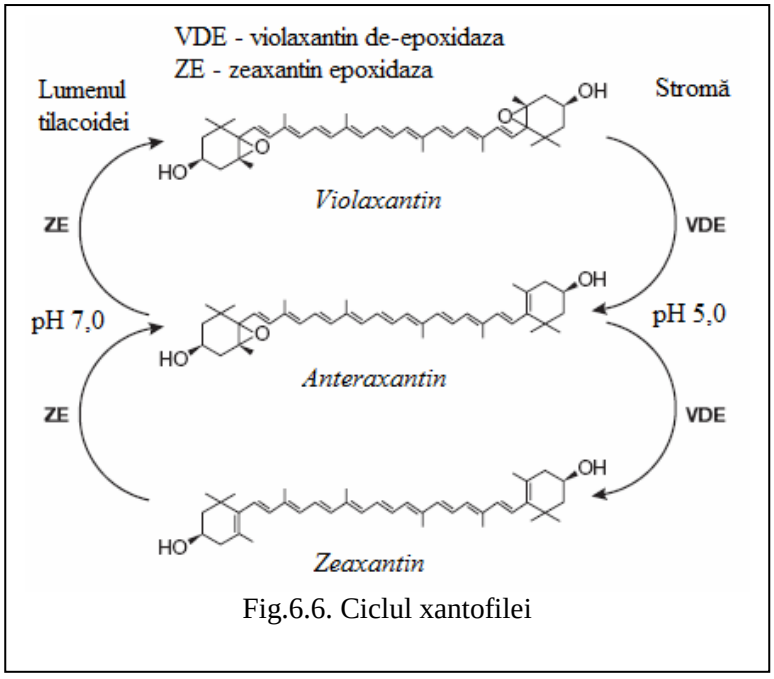


Fig.6.6. Ciclul xantofilei

Deci, de la violaxantină (o xantofilă cu două grupări epoxid) se trece la anteraxantină (o grupare epoxid) şi apoi la zeaxantină (fără grupare epoxid). Reacţia de de-epoxidare este catalizată de violaxantin de-epoxidaza (VDE) (o proteină de circa 43 kDa, codificată de nucleu şi localizată în lumenul tilacoidelor). O altă enzimă este zeaxantin epoxidaza (ZE) (flavin adenin dinucleotid). În privinţa fotosistemului I, foarte rar se vorbeşte despre participarea sa la procesul de fotoprotecţie la plante.

Un nivel redus al radiaţiilor luminoase determină eficienţă în privinţa reducerii CO_2, atingându-se un maximum teoretic. Explicaţia este dată prin aceea că în astfel de condiţii, cantitatea de lumină absorbită de antenele fotoreceptoare se află în echilibru.

6.2.4. Mecanismul procesului de fotosinteză

Mecanismul procesului de fotosinteză a constituit şi constituie o preocupare pentru numeroşi oameni de ştiinţă. În prezent, se consideră că procesul de fotosinteză se desfăşoară în două faze:

I ► **- faza dependentă de lumină,** care se desfăşoară în tilacoidele cloroplastelor;

II ► **- faza independentă de lumină sau enzimatică,** care se desfăşoară în stroma cloroplastelor (*fig.6.7.*). Aceasta se poate desfăşura şi la întuneric, atâta timp cât este disponibil ATP şi $NADPH^+ + H^+$.

6.2.4.1. Faza dependentă de lumină la plantele superioare

Principalele procese care se desfăşoară în faza dependentă de lumină constau în :

● *absorbţia energiei luminoase* şi *transformarea ei în energie biochimică potenţială*, respectiv *formarea de ATP* (substanţă bogată în energie), precum *şi* $NADPH_2$ (substanţă cu un puternic caracter reducător); Ambele substanţe urmează a fi folosite în faza a doua a fotosintezei, în procesul fixării CO_2.

● *fotoliza moleculelor apei*: punerea în libertate a protonilor, electronilor şi a oxigenului molecular;

- absorbţia dioxidului de carbon (ex. la plantele C_3 stomatele sunt deschise la lumină).

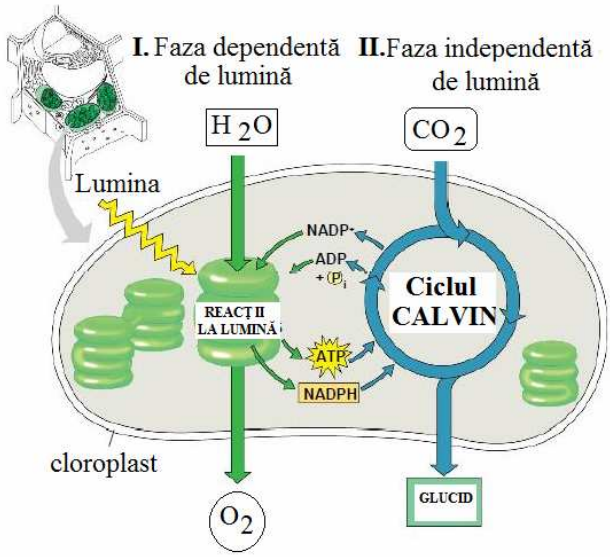


Fig. 6.7. Fazele procesului de fotosinteză

<u>Structuri specifice implicate</u>

Desfăşurarea acestor procese se datorează existenţei la nivelul tilacoidelor cloroplastului a unor structuri specifice, respectiv a 4 complexe proteice principale şi a pigmenţilor asimilatori. Înainte de a prezenta modul de realizare a proceselor amintite, se impune cunoaşterea alcătuirii acestor complexe. Astfel, principalele complexe sunt:

- *fotosistemul II (FS II);*
- *complexul citocrom b_6- citocrom$_f$;*
- *fotosistemul I (FS I);*
- *complexul ATP-sintetază.*

La nivelul ambelor fofosisteme se găsesc *pigmenţii asimilatori,* care alcătuiesc antene fotoreceptoare (complexe de clorofile, caroteni şi proteine), cu rolul de a capta energia fotonilor şi de a o transmite spre centrele de reacţie.

Fotosistemul II constă dintr-un complex proteic (polipeptidic) integral, care conţine *centrul de reacţie* reprezentat de clorofila *a* $_{680}$. Toate polipeptidele sunt codificate de genomul cloroplastului. Prin urmare, există un *complex antenă* care captează şi transmite energia luminoasă la clorofila a $_{680}$.

Asociat centrului de reacţie şi interfeţei membrană-lumen se găseşte complexul producător de oxigen (CPO) care este alcătuit din polipeptidele periferice, codificate de gene nucleare. Aceste polipeptide se crede a ajuta la legarea Ca^{2+} şi Cl^-, ambele elemente fiind esenţiale pentru fotoliza apei.

De asemenea, din FSII fac parte *plastochinonele*. Plastochinonele sunt chinone speciale situate în plastide, care transportă 2 electroni de la FS II, către FS I şi care transportă de asemenea H^+ dinspre stromă, către lumenul tilacoidelor. Mai este prezentă *feofitina*, o moleculă de *clorofilă a modificată*, prin aceea că atomul central de Mg^{2+} al clorofilei este înlocuit cu doi atomi de H^+.

Plastochinona este solubilă în lipide şi liberă să difuzeze în membrană, în timp ce plastocianina poate difuza în mediul apos al lumenului tilacoidelor. Difuzibilitatea celor două este importantă, pentru că rezolvă incompatibilitatea spaţială a fotosistemelor şi a Cit b_6f.

Se apreciază că FS II este situat cu precădere în tilacoidele granale.

Clorofila a din centrul de reacţie al FS II primeşte energia luminoasă prin rezonanţă inductivă de la aproximativ 250 molecule de *Cl.a* şi *Cl.b* (prezente în număr aproape egal) şi de la numeroase xantofile. Aceşti pigmenţi alcătuiesc complexul de captare a energiei luminoase în cadrul FS II (numit

LHCII). Ei funcţionează ca un sistem antenă, care absoarbe energia luminoasă şi trimite energia de excitaţie către *Cl.*a_{680}.

O altă funcţie a FS II este folosirea energiei luminoase pentru reducerea plastochinonei oxidate (PQ) şi formarea plastochinonei reduse (PQH_2), folosind electronii proveniţi de la apă.

Complexul citocrom b_6 - citocrom$_f$ constă din 4 polipeptide integrale (citocrom b_6, cit.$_f$, proteina cu 2Fe-2S şi componenta IV, care nu are Fe şi a cărei funcţie nu este cunoscută), dintre care 3 conţin Fe. În timpul transportului electronilor, el permite desfăşurarea reducerii la Fe^{2+}, apoi din nou oxidarea la Fe^{3+}. Prezenţa fierului (cu posibilitatea modificării valenţei) permite transportul electronilor, prin oxidarea plastochinonei reduse şi reducerea unei proteine mici, mobile, care conţine Cu (*plastocianină*). De asemenea, este provocat transportul protonilor din stromă, în lumen. Aceasta ajută la separarea electronilor şi protonilor rezultaţi din apă, cu concursul complexului producător de oxigen.

Complexul citocrom b_6-f se află în concentraţii egale în tilacoidele stromei şi tilacoidele granale. Funcţia principală este transportul electronilor de la FS II, către FS I.

Fotosistemul I este constituit din antene fotoreceptoare (circa 100 molecule de clorofila a şi b în proporţie de 4:1, caroteni), centru de reacţie – *clorofila* a_{700}, precum şi transportori de electroni asociaţi cu polipeptidelele centrului de reacţie.

Transportorii de electroni asociaţi cu polipeptidele din centrul de reacţie sunt numiţi A_0, A_1 şi X, fiind identificaţi ca:

A_0- o moleculă de clorofilă a;

A_1- probabil o filochinonă (vitamina K_1);

X- o proteină cu Fe-S, asemănătoare cu cea din complexul anterior, dar conţine 4Fe-4S şi nu 2Fe-2S.

El oxidează plastocianina redusă şi transferă e^- la o formă solubilă a proteinei cu Fe-S (feredoxină) situată către stromă. Electronii sunt apoi folosiţi la reducerea $NADP^+$ şi împreună cu H^+ rezultă $NADPH^+ + H^+$. Ca localizare în cloroplast- FSI este situat exclusiv în tilacoidele stromei şi zonele de contact cu grana (faţa dinspre stromă).

Toate centrele Fe-S pot prelua (via un Fe^{3+}) şi transfera (via Fe^{2+}) numai un electron odată, chiar dacă sunt mai mulţi Fe. Acest fotosistem absoarbe energia luminoasă independent de FS II, dar el conţine un centru de reacţie care primeşte electronii originari de la apă şi trecuţi prin centrul de reacţie al FS II. În centrul de reacţie este clorofila a - P_{700}.

FS I primeşte energia prin rezonanţă inductivă de la cca 100 molecule de clorofilă a şi b (raportul lor 4:1), dispuse în sistemul antenă, numit LHCI. Are rol în a oxida pastocianina redusă şi a transfera electronii la o forma solubilă a proteinei cu Fe-S, numită *feredoxină.* Feredoxina este o proteină periferică situată către stromă.

Electronii de la feredoxină sunt folosiţi apoi pentru reducerea $NADP^+$ şi împreună cu protonii rezultă $NADPH_2$. Reacţia este catalizată în stromă de enzima feredoxin- $NADP^+$ oxido-reductază.

ATP- sintetaza

Este situat de-a lungul FS I, numai în tilacoidele stromei şi zonele de contact cu grana.

Constă din două părţi principale:

▪ o " tulpină" numită CF_0, care se întinde de la lumen şi traversează membrana tilacoidală către stromă;

▪ o parte sferică, " o piesă cap " numită CF_1, catalitică, situată în stromă, cu rol în conversia ADP şi a fosforului anorganic, la ATP şi H_2O.

Structura ATP- sintetazei din cloroplast este foarte asemănătoare cu a celor din mitocondrie şi din bacteria *Escherichia coli*.

Desfăşurarea proceselor specifice fazei de lumină

Desfăşurarea proceselor în faza de lumină este redată în *figura 6.8.*.

Energia luminoasă este captată simultan de către antenele fotoreceptoare care aparţin ambelor fotosisteme *şi* este transmisă prin rezonanţă inductivă de la o moleculă de pigment la alta, până la centrele de reacţie (clorofila a $_{680}$ şi clorofila a $_{700}$).

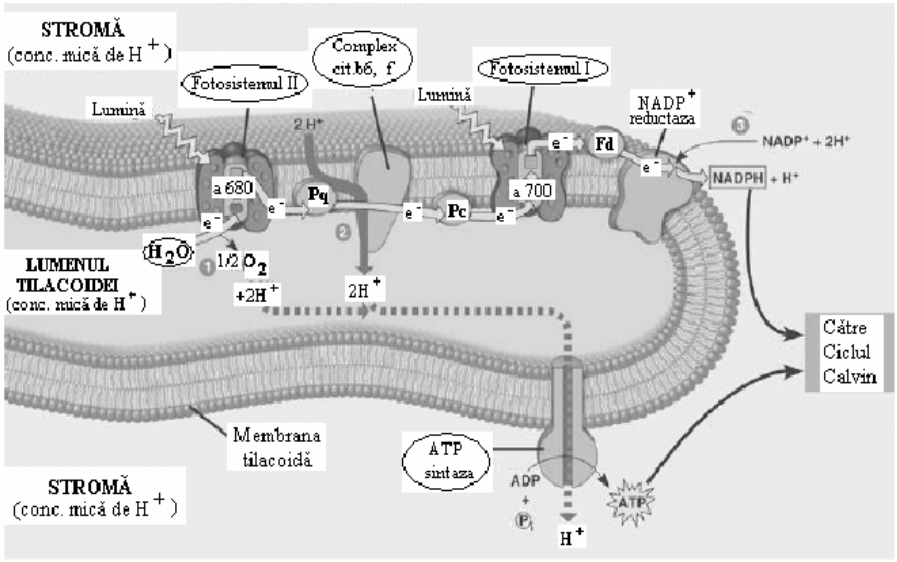


Fig. 6.8. Principalele procese care au loc în faza dependentă de lumină

Moleculele de clorofilă din centrele de reacţie vor intra într-o *fază de excitaţie*, în consecinţă vor expulza un e^- (deci se vor oxida). Dar, în scurt timp ele îşi vor reveni la starea de bază, prin primirea unui e^- (deci se vor reduce). De unde vine acest e^- ? Corofila a $_{680}$ primeşte e^- de la moleculele de H_2O, electron care se eliberează în urma fotolizei apei. Clorofila a $_{700}$ primeşte e^- de la FSII, electron transportat prin lanţul de proteine transportoare.

Prin urmare, **e^- expulzat de clorofila a_{680}** este transportat către plastochinonă (PQ), care în prezenţa a $2e^-$ şi a $2H^+$ preluaţi dinspre stromă se reduce şi rezultă PQH_2. Plastochinona redusă este mobilă în bistrat şi cedează e^- la complexul cit_{b6}-cit_f şi H^+ în lumen, apoi reface drumul.

De la cit_{b6}-cit_f e^- sunt cedaţi plastocianinei, care la rândul său îi cedează clorofilei a_{700} din FSI. Aşa îşi revine molecula de clorofilă la starea iniţială, deoarece tocmai spuneam că a pierdut un e^-. De la FSI, e^- este transportat către feredoxină şi prin intermediul enzimei feredoxin-NADP oxido-reductaza şi a protonilor (H^+) se formează $NADPH^+ + H^+$.

Spunem că a avut loc *transportul aciclic al electronilor* (căci ei nu se mai întorc la FSII) şi în urma acestui transport s-a format substanţa cu un puternic caracter reducător.

Există însă şi posibilitatea ca e^- de la feredoxină să nu mai fie transferaţi la $NADP^+$. Feredoxina redusă (Fdx_{red}) interacţionează cu Fdx – plastochinonă oxidoreductaza, care permite transferul electronilor la chinone. Plastochinona poate apoi să fie oxidată de complexul cit.b_6f , permiţând translocarea protonilor transmembranal. Apoi, se continuă ciclul amintit anterior, deci are loc un *transport ciclic al electronilor*. În urma acestui transport nu se formează $NADPH^+ + H^+$, dar transportul în plus de protoni foloseşte la sinteza suplimentară de ATP.

Dar, cum revine clorofila a_{680} la starea de bază ?

Clorofila a_{680} primeşte electronul de la molecula de H_2O. Electronul rezultă în urma fotolizei apei. Procesul este realizat de către complexul producător de oxigen (CPO). Un rol deosebit revine ionului Mn (cu diferitele sale stări de oxidare: Mn^{2+}, Mn^{3+}, Mn^{4+}) (*fig. 6.9.*).

Acest model schematic denumit *mecanismul de stare S* a fost propus de Kok şi al. (1970). El constă într-o serie de 5 stadii cunoscute ca S_0 ....S_4, care reprezintă în mod succesiv forme mai oxidate ale sistemului enzimatic de oxidare a apei. Stadiul S_4 produce O_2, fără un ulterior imput de lumină şi apoi se revine la starea S_0.

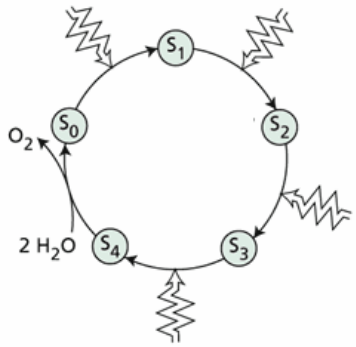


Fig. 6.9. Stările succesive de oxidare în cadrul CPO

În urma oxidării unei molecule de apă sunt eliberaţi $2e^-$ pentru transport. Primul compus care - i primeşte, câte unul o dată este aminoacidul tirozină din polipeptidul D_1, urmând apoi transferul la P_{680}. Deci, lumina provoacă oxidarea P_{680} şi P_{680}^+ acţionează apoi ca un atractant de electroni (oxidant). P_{680} cedează electronii feofitinei şi aceasta îi cedează plastochinonelor, pentru a căror reducere sunt necesari şi protoni.

Necesitatea a doi electroni şi a 2 protoni pentru reducerea PQ este importantă în fotofosforilarea fotosintetică, pentru că protonul folosit vine din stromă, apoi, când mai târziu PQH_2 este oxidată, H^+ este transferat de la ea, în lumenul tilacoidei. Rezultatul reducerii PQ la FS II şi apoi oxidarea de către cit.b_6, cit_f îl constituie transportul a doi protoni din stromă, către lumen. Aceşti protoni sunt apoi transportaţi înapoi, prin intermediul ATP- sintetazei, în cadrul procesului care conduce la formarea de ATP.

De la plastochinone, electronii sunt transportaţi la complexul cit.b_6-f şi cit.$_f$ cedează un electron la PC oxidată. Ca urmare, aceasta se reduce. Fiecare plastocianină mobilă transportă un electron de-a lungul lumenului tilacoidei, către FS I. Acceptorul iniţial este P_{700}, care-l primeşte numai în momentul când tocmai a pierdut unul. Pierderea unui electron are loc când energia luminoasă a fost transferată de la LHC I, la P_{700}.

Fiecare electron de la P_{700} trece la componentele: A_0, apoi la A_1 şi respectiv la compusul cu 4Fe-4S. În final, feredoxina mobilă acceptă un electron şi-l transferă la $NADP^+$, formându-se $NADPH^+ + H^+$ în stromă.

Iată deci că în faza de lumină electronii sunt transportaţi de la H_2O către $NADP^+$ şi sunt depozitaţi temporar în $NADPH+H^+$, înainte de a participa la reducerea CO_2. Raţiunea pentru care este necesară energia luminoasă este aceea că apa este termodinamic dificil de oxidat, iar $NADP^+$ este moderat dificil de redus.

Dar, în urma fotolizei apei rezultă şi H^+.

Ce se întâmplă cu protonii (H^+) ?

Protonii se acumulează la concentraţii mari în lumenul tilacoidelor (pH 5) (cei rezultaţi din fotoliza apei, dar şi cei transportaţi dinspre stromă) de circa 1000 de ori mai mari, decât în stromă (pH 8). Se creează deci un puternic gradient al protonilor către stromă şi deoarece tilacoidele sunt impermeabile pentru H^+, transportul se realizează prin intermediul ATP sintetazei.

ATP sintetaza este orientată în membrana tilacoidă cu o grupare hidrofilă către stromă şi un canal hidrofob, care permite protonilor să difuzeze spontan de la lumen, către stromă. Măsurătorile au indicat un raport de $4H^+$/ATP, iar după modelul transportului neciclic, transferul net a doi electroni prin lanţul de transport are ca rezultat acumularea a şase protoni în lumen.

Ideea că gradientul de pH poate asigura energia pentru formarea ATP în cloroplaste, mitocondrie şi bacterii a fost întâi propusă de Peter Mitchell- 1961 în Anglia, teoria numindu-se *teoria chimiosmotică***.**

Astăzi, explicaţia este dată prin aceea că CF_1 suferă o modificare conformaţională („binding change mechanism") ceea ce conduce la formarea de ATP (Boyer, 1997).

►Formarea de ATP în relaţie cu transportul de protoni odată cu transportul aciclic al electronilor de la H_2O către $NADP^+$ se numeşte *fotofosforilare aciclică*.

►Formarea de ATP fără implicarea FSII şi fără a se forma $NADPH^+ + H^+$, dar cu concursul transportului ciclic al electronilor se numeşte *fotofosforilare ciclică*.

Prin urmare, rezultă mai mult ATP, decât $NADPH^+ + H^+$.

6.2.4.2. Faza independentă de lumină (enzimatică) a fotosintezei – reducerea dioxidului de carbon şi sinteza hidraţilor de carbon

Pentru început, trebuie subliniat faptul că desfăşurarea acestei faze comportă anumite particularităţi la diferite specii de plante. Ca urmare, se descriu aşa numitele **căi metabolice**: ***C_3, C_4 şi CAM***.

Calea C_3 este specifică celor mai multe specii de plante. Se desfăşoară în stroma cloroplastului. Se folosesc produşii fazei dependente de lumină, pentru reducerea fotosintetică a CO_2 (PCR). Produsul organic primar detectat este un acid cu 3 atomi de carbon.

Pentru căile C_4 şi CAM, de precizat faptul că faza enzimatică constă în parcurgerea a două etape:

a) asimilarea carbonului de către un compus cu 3 atomi de carbon şi formarea unuia cu patru atomi de carbon; procesul este realizat în celulele mezofilului (la plante de tip C_4) şi în timpul nopţii (la plante de tip CAM);

b) reducerea fotosintetică a CO_2, asemenea mecanismului plantelor C_3: în celulele tecii perivasculare (la C_4) şi în cursul zilei (la CAM).

Deci, cele două etape sunt separate în spaţiu, la plantele C_4 şi separate în timp, la plantele CAM.

A) Calea C_3 – Ciclul Calvin – Reducerea fotosintetică a carbonului (PCR)

Ciclul Calvin sau calea C_3 de reducere fotosintetică a carbonului a fost elucidat pentru prima oară în anii 1950, de către Melvin Calvin, Andrew Benson şi James A. Bassham.

În cadrul acestei căi are loc reducerea fotosintetică a dioxidului de carbon, cu participarea produşilor fazei de lumină (ATP şi $NADPH^+ + H^+$), într-un şir de reacţii denumite în mod sintetic - *ciclul Calvin* (ciclul reducerii fotosintetice a carbonului – PCR). *Acceptorul CO_2* este o substanţă cu 5 atomi ce carbon – *ribulozo-1,5-bisfosfat*. ***Enzima*** care catalizează aceste reacţii este ribulozo-bis-fosfat carboxilaza-oxigenaza ***(RUBISCO)***, o enzimă care funcţionează în toate organismele fotosintetizante, exceptând câteva bacterii fotosintetizante. Aproximativ 1/2 din conţinutul total al proteinelor din frunze se află în cloroplaste şi circa 1/2 este reprezentat de RUBISCO.

Cercetările efectuate pe alga verde unicelulară - *Chlorella* folosind $^{14}CO_2$ au reliefat că produsul primar detectat rezultat prin fixarea CO_2 a fost un acid cu 3 atomi de carbon - acidul 3-fosfogliceric. Aşa se explică şi denumirea căii – C_3. Acelaşi produs a fost detectat şi la alte plante.

Etapele principale ale reducerii fotosintetice a CO_2 pe calea C_3

Principalele etape ale reducerii fotosintetice a CO_2 sunt:

1) ► **carboxilarea**: fixarea CO_2 şi H_2O la ribulozo 1,5 –bisfosfat, printr-o reacţie catalizată de RUBISCO şi formarea a 2 molecule de acid 3-fosfogliceric.
2) ► **reducerea carbonului fixat:** gruparea carboxil a acidului 3- fosfogliceric este redusă la aldehidă 3-fosfoglicerică. În această reacţie este necesar ATP şi $NADPH_2$, respectiv pentru fiecare mol de CO_2 fixat, se folosesc 2 $NADPH_2$ şi 2ATP. Al treilea ATP se foloseşte în faza a treia.
3) ►**- regenerarea acceptorului de CO_2,** respectiv regenerarea ribulozo 1,5 - bisfosfat, folosindu-se cea de-a treia moleculă de ATP (*fig. 6.10.*).

După unii cercetători, se apreciază existenţa unei *a patra* etape, respectiv ***sinteza produşilor finali***.

Practic, din 6 molecule de aldehidă fosfoglicerică, una este pusă în libertate, iar 5 molecule sunt folosite pentru regenerarea acceptorului.

Unele molecule de aldehidă 3-fosfoglicerică pot fi utilizate în cloroplast, pentru biosinteza amidonului, ca formă tranzitorie la plantele amidonofile. Altele, sunt transformate în dihidroxiaceton fosfat, care poate fi transferat în afara cloroplastului. La nivelul citosolului se sintetizează hexozele, respectiv glucozo-1,6-difosfat (din două molecule de aldehidă 3-fosfoglicerică). Dintr-o moleculă de aldehidă 3-fosfoglicerică şi una de dihidroxiaceton fosfat rezultă fructozo 1,6-difosfatul. Dintr-o moleculă de glucoză şi una de fructoză se formează zaharoză.

Zaharoza reprezintă principala formă de transport a glucidelor în plante. Glucoza şi fructoza constituie substrat pentru respiraţie. Compuşii intermediari rezultaţi sunt folosiţi pentru biosinteza altor substanţe organice în plante.

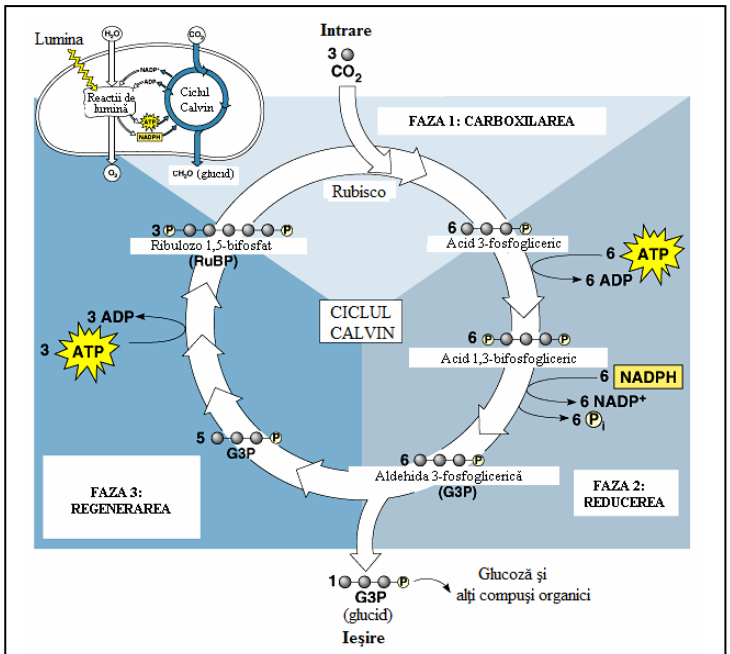


Fig. 6.10. Reducerea fotosintetică a carbonului - Ciclul Calvin

A.1. Fotorespiraţia

Fotorespiraţia reprezintă procesul *eliberării de CO_2, dependent de lumină, proces caracteristic celulelor fotosintetic active* şi care diferă în multe privinţe de producerea de CO_2 şi consumul de O_2 care au loc în mitocondrie. Fotorespiraţia sau ciclul acidului glicolic implică cooperarea între un cloroplast, un peroxizom de frunză şi o mitocondrie (*fig. 6.11.*) (Somerville, 2001). Procesul se datorează faptului că enzima RUBISCO implicată în ciclul Calvin posedă o funcţie dublă, carboxilazică (rezultatul fiind formarea în cloroplast a 2 molecule de acid fosfogliceric) şi oxidazică (când prin fixarea O_2 la acceptor se formează 1 moleculă de acid fosfo-gliceric şi 1 moleculă de acid fosfoglicolic).

$$\text{RUBIS-P} \xrightarrow[\textbf{\textit{Carboxilaza(C)}}]{+\,CO_2} [\,C_6\,] \rightarrow 2\ \text{P- gliceric}$$

$$\text{RUBIS-P} \xrightarrow[+O_2]{\textbf{\textit{Oxigenaza(O)}}} \text{P-glicolic} + \text{P- gliceric}$$

Cele două reacţii catalizate de RUBISCO sunt competitive. Ratele acestora depind de concentraţiile dioxidului de carbon şi oxigenului, precum şi de temperatură. Astfel, concentraţia mică de O_2 şi respectiv concentraţia mare de CO_2 stimulează carboxilarea şi înhibă cea de-a doua reacţie. În cazul unor concentraţii normale în aer ale O_2 şi CO_2 şi la o temperatură de 25°C, raportul între reacţiile catalizate de oxigenază şi carboxilază este de circa 0,4: 1. De asemenea, activitatea oxigenazei este stimulată mult mai mult de temperaturile ridicate, comparativ cu activitatea carboxilazei.

Inhibarea fotosintezei la plantele C_3 de către O_2 a fost demonstrată încă din anul 1920, de către biochimistul german Otto Warburg. Procesul a fost numit *efectul Warburg* (Warburg, 1920). În 1971, Ogren şi Bowes au demonstrat experimental că O_2 poate inhiba fixarea CO_2 de către RUBISCO, ceea ce a explicat aparent efectul Warburg.

Ciclul C_2 de biodegradare a acidului glicolic

a) Cantitatea destul de mare de acid glicolic sintetizată la lumină nu poate fi utilizată în continuare în cloroplast. În acest organit, acidul fosfoglicolic format este transformat în acid glicolic, sub acţiunea fosfoglicolat fosfatazei (PGP).

b) **La plantele superioare**, acidul glicolic difuzează într-un tip special de peroxizomi, specifici celulelor frunzelor asimilatoare şi denumiţi " ***peroxizomi de frunză*** ". Acidul glicolic este metabolizat în cadrul *ciclului fotosintetic oxidativ al carbonului* (ciclul C_2).

Cele mai importante funcţii enzimatice ale peroxizomilor frunzei sunt:

- oxidarea acidului glicolic, în prezenţa O_2 la acid glioxilic, sub acţiunea glicolat oxidazei (GOX), concomitent cu transferul electronilor la oxigen şi formarea apei oxigenate; apa oxigenată (H_2O_2) formată este descompusă sub acţiunea catalazei.

- acidul glioxilic este transaminat prin intermediul a două transaminaze: serin: glioxilat aminotransferaza sau Glu: glioxilat aminotransferaza. Rezultă glicina, care va reprezenta substratul a două enzime mitocondriale.

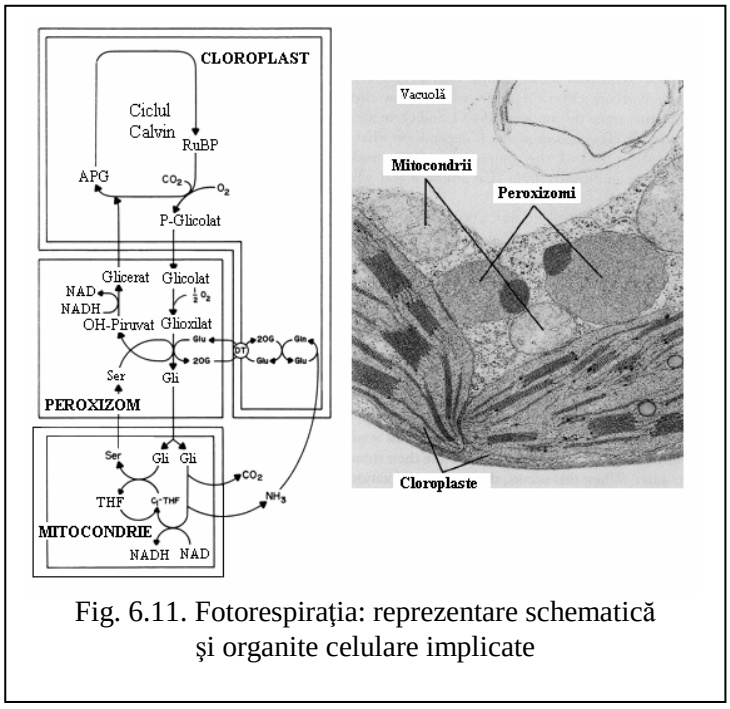


Fig. 6.11. Fotorespiraţia: reprezentare schematică şi organite celulare implicate

c) Glicina este transportată către mitocondrie, unde are loc decarboxilarea oxidativă prin intermediul complexului glicin decarboxilazei (GDC). Rezultă CO_2, amoniu şi grupul metilen al metilen tetrahidrofolat (C_1- THF). Serin hidroximetil transferaza (SHMT) ataşează unitatea metilen, la cea de-a doua moleculă de glicină, pentru a rezulta serina. În timp ce pierderea CO_2 fixat anterior este un proces costisitor energetic, dar nedăunător, amoniul este citotoxic. Este nevoie ca amoniul să fie reasimilat în mod eficient.

Serina difuzează înapoi în peroxizom, unde este dezaminată la hidroxipiruvat. Acesta este redus la acid gliceric, cu ajutorul hidroxipiruvat reductazei. Acidul gliceric intră în cloroplast şi este fosforilat la acid 3- fosfogliceric, un intermediar al ciclului Calvin. Amoniul eliberat este folosit de glutamin sintaza, pentru producerea glutaminei.

Semnificaţia fotorespiraţiei

Din punct de vedere fiziologic, ***semnificaţia acestui ciclu*** nu a fost pe deplin lămurită. Specialiştii în domeniu consideră ca fiind foarte potrivită utilizarea termenului " leakage point = punctul de scurgere " – al ciclului Calvin. Fotorespiraţia are ca rezultat pierderea până la 25% din carbonul fixat pe parcursul asimilării fotosintetice a carbonului. În ciuda pierderii nete de carbon, ciclul fotorespirator permite regăsirea în compuşi cu 3 atomi de carbon (ciclul C_3) a 3 moli de carbon (ca acid 3 fosfogliceric) pentru fiecare carbon fotorespirat sub formă de CO_2. S-a demonstrat de altfel faptul că la multe plante, fixarea netă a CO_2 poate fi sporită cu 30%-60%, dacă este eliminat O_2.

Prin urmare, la plantele C_3 rata reducerii fotosintetice a carbonului este limitată din cauza procesului de fotorespiraţie.

Cercetări recente însă au evidențiat o nouă cale de a reduce pierderile fotorespiratorii la *Arabidopsis thaliana*, prin eliberarea CO_2 în jurul enzimei RUBISCO. Această cale se bazează pe încorporarea unei căi bacteriene la nivel de cloroplast, pentru catabolismul substratului fotorespirator reprezentat de acidul glicolic (Kebeish și al., 2007). Conversia acidului glicolic direct la acid gliceric determină la plantele transgenice sporirea productivității, prin îmbunătățirea fotosintezei (Khan, 2007).

Unii cercetători consideră peroxizomii ca remanenţi ai organitelor respiratorii existente cu foarte mult timp în urmă, iar fotorespiraţia ca un defect evolutiv al metabolismului autotrof. Însă, *ambele activităţi (oxigenazică şi carboxilazică) ale enzimei RUBISCO au fost observate la toate plantele, inclusiv la bacterii fotoautotrofe.*

Fotorespiraţia poate fi considerată ca un mecanism pentru detoxifierea acidului glicolic. Această interpretare este susţinută de cercetările cu mutante, la care unele enzime ale ciclului C_2 lipsesc. Aceste mutante cresc normal, dacă reacţia oxigenazică a RUBISCO este inhibată cu o concentraţie mare de CO_2 sau o concentraţie mică de O_2. Fără asigurarea unor astfel de condiţii (respectiv într-o atmosferă normală) aceste plante mor, ca urmare a acumulării în cantităţi mari a acidului glicolic şi deci a toxicităţii acestuia. Mai mult, a fost descris un nou mecanism de apărare față de agenții patogeni, mecanism în care enzima fotorespiratorie serin: glioxilat aminotransferaza (SGT) joacă un rol major (Taler și al., 2004).

Alte căi de desfăşurare a fazei enzimatice la plantele superioare

La multe plante superioare *nu se desfăşoară* procesul de *fotorespiraţie.* Aceasta se întâmplă nu pentru că enzima RUBISCO ar prezenta alte caracteristici. *Explicaţia* în astfel de situaţii este dată prin aceea că aceste plante dispun de mecanisme specifice de concentrare a CO_2 în jurul enzimei RUBISCO. Prin urmare, existenţa unei concentraţii suficient de mari de dioxid de carbon în jurul enzimei face ca activitatea oxigenazică să fie blocată.

În literatura de specialitate, pentru plantele superioare sunt descrise *două mecanisme de concentrare a CO_2 la situsul de carboxilare al enzimei* (*fig. 6.12.*). Un al treilea mecanism a fost descris la cianobacterii, alge, respectiv - pompa pentru CO_2.

1)- faza enzimatică pe calea C_4

Calea constă în parcurgerea a *două etape separate spaţial*:
1) - ciclul de asimilare fotosintetică a carbonului (PCA sau ciclul C_4);
2) - ciclul de reducere fotosintetică a carbonului (PCR sau ciclul C_3).

2)- faza enzimatică pe calea CAM
Calea constă în parcurgerea a *două etape separate în timp*:
1) - ciclul de asimilare fotosintetică a carbonului (PCA sau ciclul C_4);
2) - ciclul de reducere fotosintetică a carbonului (PCR sau ciclul C_3).

În lucrarea de sinteză a lui Keeley şi Rundel (2003) sunt prezentate date interesante cu privire la evoluţia mecanismelor C_4 şi CAM.

Asimilarea fotosintetică a carbonului pe calea C_4

Această cale a fost descoperită în anul 1966 de către doi cercetători australieni – Hatch M.D şi Slack C.R.. Este cunoscută şi sub denumirea de *calea Hatch- Slack.*

Se întâlneşte la circa 18 familii de plante (pe jumătate comparativ cu răspândirea căii CAM), fiind restrânsă **la nivelul plantelor angiosperme**, *în special plante erbacee.* Exemple de astfel de plante: trestia de zahăr, porumb, sorg, mei etc.

La dicotiledonate are o pondere extrem de redusă (mai puţin de 1%). Majoritatea plantelor C_4 sunt din ordinul *Caryophyllidae*, incluzând familiile *Chenopodiaceae*, *Amaranthaceae* şi *Polygonaceae*, cu 550, 250 şi respectiv 80 specii. De asemenea, C_4 se regăseşte la *Rosidae* (*Euphorbiaceae*) şi *Asteridae* (*Asteraceae*). Calea C_4 se desfăşoară şi la plantele angiosperme acvatice submerse, atât monocotiledonate, cât şi dicotiledonate.

La plantele C_4 *anatomia frunzei* prezintă anumite particularităţi. În jurul vaselor conducătoare există un strat de celule ce alcătuieşte teaca perivasculară (care conţine numeroase cloroplaste), iar celulele mezofilului situate în jurul tecii perivasculare au un număr mic de cloroplaste. Structura frunzei este de *tipul Kranz* („Kranz- Crown / Halo") (*fig. 6.13.*). Dacă literatura veche punea semnul egal între acest mecanism şi anatomia Kranz, acum sunt exemple clare de plante C_4 (plante acvatice şi terestre) fără această structură. Faţă de flexibilitatea expresiei CAM, plantele C_4 în general sunt obligate la folosirea sistemului, cu excepţia plantelor acvatice. Genul *Flaveria* (fam. *Asteraceae*) este neobişnuit, deoarece conţine specii C_3, C_4 şi specii intermediare C_3-C_4. Această diversitate face ca *Flaveria* să fie subiect interesant în cadrul studiilor evenimentelor moleculare care însoţesc tranziţia de la fotosinteza C_3, la C_4.

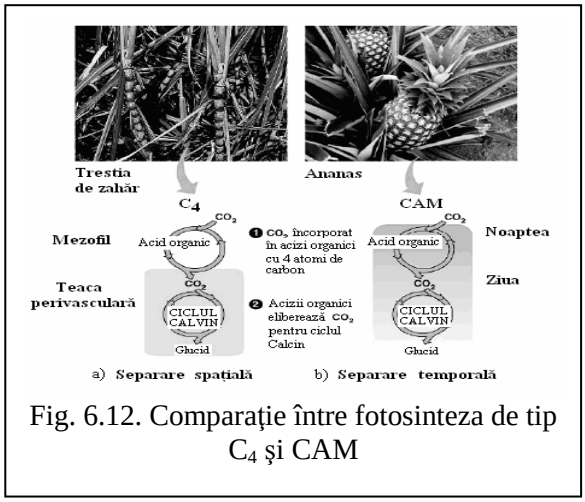


Fig. 6.12. Comparaţie între fotosinteza de tip C_4 şi CAM

Plantele de acest tip au un avantaj în competiţia cu plantele de tip C_3, în condiţii de uscăciune, temperaturi mari, limitări în privinţa N sau CO_2. Capacitatea lor de a elimina fotorespiraţia poate conduce la rate fotosintetice semnificativ mai mari şi capacitatea de a menţine rate mari în ceea ce priveşte eficienţa folosirii apei. *La plantele lemnoase,* calea C_4 se întâlneşte rar. Totuşi, sunt şi exemple de astfel de plante, precum arbustul lemnos *Euphorbia forbesii,* care creşte în pădurile deschise din insulele Hawai.

Cercetările efectuate în ultimii ani au stabilit mecanismele fiziologice şi biochimice ale concentrării CO_2, care creează în celulele tecii perivasculare a frunzelor C_4 o concentraţie mare a CO_2 şi s-au stabilit anumite particularităţi ale fotosintezei. După Edwards şi al.(2001), cerinţele minime pentru concentrarea CO_2 sunt:

▪ o amplificare celulară specifică a enzimelor implicate în acest tip de fotosinteză (ex. fosfoenolpiruvat carboxilaza în mezofil şi C_4 acid decarboxilazele, precum şi RUBISCO în celulele tecii perivasculare), cât şi o adaptare a activităţii fotosistemelor şi a transportului electronilor;

▪ existenţa unor translocatori specifici de metaboliţi;

▪ conectarea prin simplast a celor două zone separate spaţial;

▪ bariere pentru difuziunea CO_2 între locul fixării sale în celulele mezofilului şi locurile de eliberare a dioxidului de carbon şi respectiv de refixare în celulele tecii perivasculare.

Prin urmare, calea C_4 presupune cooperarea celor două tipuri de celule, în vederea concentrării CO_2 în celulele tecii perivasculare.

Sunt parcurse **patru etape**:

1) - *asimilarea CO_2*, respectiv carboxilarea acceptorului reprezentat de acidul fosfo enol piruvic (PEP) în celulele mezofilului; procesul este catalizat de enzima fosfoenol piruvat carboxilază; rezultatul acestei reacţii este formarea unor acizi cu 4 atomi de carbon (acidul malic sau acidul aspartic);

2) - *transportul acizilor* formaţi anterior, înspre celulele tecii perivasculare;

3) - *decarboxilarea acestor acizi* cu patru atomi de carbon, în celulele tecii perivasculare; formarea unui compus cu 3 atomi de carbon şi eliberarea de CO_2, care urmează a fi redus la hidraţi de carbon pe calea ciclului C_3;

4) - *transportul acidului cu trei atomi de C*, care a rezultat prin decarboxilare (acidul piruvic sau alanina), înapoi spre celulele mezofilului şi regenerarea acidului fosfo enol piruvic, ca acceptor de CO_2 (*fig. 6.13.*).

Faţă de enzima RUBISCO, fosfoenolpiruvat carboxilaza (PEP carboxilaza) are anumite avantaje, precum: afinitate mare pentru CO_2, lipsa afinităţii pentru O_2. Temperaturile mari au efecte reduse asupra activităţii ei.

În literatura de specialitate sunt descrise **trei variante ale căii C_4**. Principala diferenţă o constituie acidul C_4 transportat în celulele tecii perivasculare (acid malic sau acid aspartic) şi maniera decarboxilării. Denumirea căii are la bază enzima care catalizează reacţiile de decarboxilare:

- enzima malică dependentă de NADP (NADP-ME) găsită în cloroplaste;
- enzima malică dependentă de NAD (NAD-ME) găsită în mitocondrie;
- fosfoenolpiruvat carboxikinaza (PEP-CK) din citosol.

Reacţia de carboxilare catalizată de PEP carboxilaza este comună celor trei variante. Ea are loc în citosolul celulelor mezofilului şi foloseşte mai degrabă HCO_3^- ,decât CO_2 ca şi substrat.

În *cazul NADP-ME*, acidul oxalic este redus la acid malic în cloroplastele mezofilului de către $NADPH^+ + H^+$ folosind NADP: malat dehidrogenaza. Acidul malic format intră în cloroplastul celulei tecii perivasculare şi aici este supus decarboxilării oxidative, rezultând acid piruvic. Dioxidul de carbon eliberat în celulele tecii perivasculare este transformat în hidraţi de carbon, prin ciclul Calvin.

Acidul piruvic este transportat înapoi în mezofil şi este transformat în acid fosfoenolpiruvic, în cloroplastul celulei mezofilului. Această reacţie este comună tuturor celor trei variante.

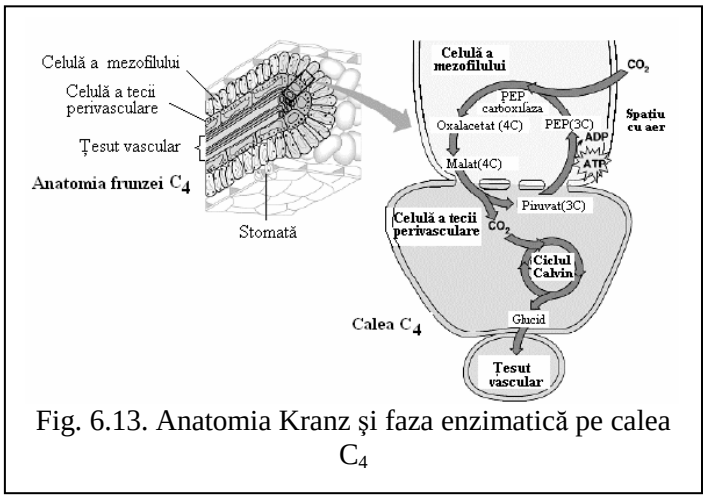


Fig. 6.13. Anatomia Kranz şi faza enzimatică pe calea C_4

Un alt proces localizat în cloroplastele celulelor mezofilului la cele trei variante este *reducerea acidului 3-fosfogliceric* la triozo-fosfaţi, care are loc în cadrul ciclului Calvin propriu cloroplastelor la plante C_3. *Spre deosebire de acestea*, toate variantele C_4 exportă acidul 3-fosfogliceric din celulele tecii perivasculare, pentru reducere, în cloroplastele mezofilului. După reducere, triozo-fosfaţii sunt transportaţi înapoi în cloroplastele celulelor tecii perivasculare, fiind folosiţi pentru operarea ciclului Calvin.

O posibilă explicaţie pentru această splitare a ciclului Calvin între cloroplastele tecii perivasculare şi cele ale mezofilului ar fi de a restricţiona activitatea de transport a electronilor şi a eliberării O_2 în teaca perivasculară. Astfel, se evită nivelele de oxigen care ar favoriza fotorespiraţia (Bowyen şi Leegood, 1997).

Plantele C_4 diferă nu doar în privința asimilării CO_2 , ci și **în privința asimilării azotului**. Ambele enzime, nitrat reductaza și nitrit reductaza sunt localizate în celulele mezofilului și sunt absente în celulele tecii perivasculare (Vanghn și Campbell, 1988). Aceasta este probabil *cauza eficienței sporite a utilizării fotosintetice a azotului* (NUE) la plantele C_4, comparativ cu plantele C_3.

Faza enzimatică pe calea CAM

Calea CAM (*metabolismul acizilor la Crassulaceae*) este numită astfel după familia de plante la care un astfel de mecanism a fost observat pentru prima oară. Însă, această cale de concentrare a CO_2 nu este specifică doar acestei familii de plante.

Este cunoscută numai la plantele vasculare, aparţinând la circa 33 familii de plante. Ca urmare a distribuţiei largi, pare a fi apărut în mod independent de un număr de ori, fiind anterioară căii C_4. Majoritatea speciilor CAM sunt din diviziunea *Anthophyta*, monocotiledonate dar şi dicotiledonate.

Speciile CAM terestre sunt de obicei suculente de deşert, în special din familiile: *Cactaceae, Crassulaceae, Asteraceae.* Nu toate Crassulaceele desfăşoară CAM. Prin urmare, suculenţa nu este o precondiţie la plantele CAM. De exemplu, *Tillandsia usneoides* (epifită – America de Sud) din fam. *Bromeliaceae* nu-i suculentă, dar desfăşoară CAM. În condiţii terestre, plantele anuale sunt doar rar de tipul CAM, deoarece creşterea efemeră a constituit un mod de selecţie împotriva ratelor reduse de creştere. O excepţie este specia anuală *Mesemryanthemum crystallinum* (*Aizoaceae* - plantă cu frunze suculente), care poate folosi calea C_3, dar trece şi la calea CAM, crescută fiind în sol salin. La *Cactaceae*, plantulele sunt de tipul C_3 şi mai târziu trec la calea CAM. Nu se ştie cu exactitate dacă aceasta se datorează stresului, modificărilor programate de dezvoltare sau ambelor cauze.

Speciile epifite aparţin în special monocotiledonatelor din *Lilianae* (*Orchidaceae* – din care 60% CAM) şi *Bromelianae* (*Bromeliaceae* – din care se estimează că 50% sunt CAM), dar şi dicotiledonatele *Asclepiadaceae* (90% CAM) şi *Cactaceae* (100% CAM). De asemenea, calea CAM se regăseşte la plante acvatice care produc spori – *Lycophyta* din genul *Isoëtes*, dar şi la 5 familii din *Anthophyta* (atât monocotiledonate, cât şi dicotiledonate). Se estimează că 6% dintre plantele terestre (inclusiv epifite) şi 6% din flora acvatică posedă CAM.

Specificitatea constă în faptul că, în general, plantele adaptate mediilor uscate (exemplu cactuşii) recurg la un astfel de metabolism. Deci, pentru plantele terestre factorul selectiv este stresul hidric şi necesitatea sporirii eficienţei folosirii apei.

În timp ce plantele C_4 devin mai eficiente la intensităţi luminoase mari, la CAM influenţe mari prezintă temperatura, umiditatea atmosferică, salinitatea. De obicei, căile C_4 şi CAM se exclud una pe alta. Excepţie face planta dicotiledonată suculentă C_4 – *Portulaca oleracea*, care este capabilă să găsească calea optimă în condiţii naturale. De altfel, plantele CAM crescute în condiţii optime în ceea ce priveşte disponibilitatea apei exprimă timp de 24 de ore absorbţia CO_2 atât pe cale CAM cât şi pe calea C_3. Ratele de creştere sunt extraordinare.

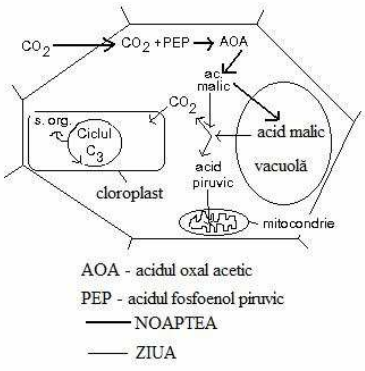


Fig. 6.14. Faza enzimatică pe calea CAM

În ceea ce priveşte *maximizarea eficienţei folosirii apei*, o plantă tipică CAM pierde 50-100 g apă pentru fiecare gram de CO_2 asimilat, comparativ cu plantele de tip C_3 şi C_4 care pierd 400 - 500 g şi respectiv 250-300 g apă. Eficienţa mărită a folosirii apei derivă din faptul că ostiolele stomatelor se deschid în perioada rece a nopţilor deşertice şi se închid în timpul zilelor calde şi uscate. Deoarece vaporii de apă şi CO_2 au aceeaşi cale de difuziune (ostiola stomatelor), asimilarea CO_2 se realizează noaptea (*fig.6.14.*).

Noaptea are loc fixarea CO_2 de către acidul fosfoenolpiruvic, proces catalizat de enzima fofoenolpiruvat carboxilaza şi rezultă acidul oxal acetic. Acesta este redus apoi la acid malic. Carbonul este depozitat temporar subcelular în vacuolă, sub formă de acid malic (vacuole mari specifice celulelor plantelor CAM).

Ziua, la plantele terestre ostiolele stomatelor se închid (reducându-se pierderea apei), dar având ca rezultat un deficit intern de dioxid de carbon. Această problemă se rezolvă prin decarboxilarea acidului malic depozitat în cursul nopţii. Pe măsură ce acidul malic din vacuole se consumă (fiind decarboxilat sub acţiune enzimatică), dioxidul de carbon nu se pierde (ostiolele fiind închise), ci este redus la hidraţi de carbon, prin intermediul căii C_3.

Existenţa unei concentraţii interne mărite a CO_2 (nivelul dioxidului de carbon în cursul zilei ajunge la de 2 până la 60 de ori nivelul mediului) face ca activitatea oxigenazică a RUBISCO să fie blocată, iar cea carboxilazică favorizată.

Atât plantele terestre, cât şi acvatice (CAM) exprimă o plasticitate extraordinară cu privire la contribuţia acestui mecanism de concentrare a CO_2 la bugetul de carbon (C) al plantelor. La multe specii CAM, fixarea pe parcursul nopţii asigură aproape tot câştigul de C. Altele însă au o contribuţie mai mică sau deloc şi rolul primar al CAM este reciclarea carbonului provenit din respiraţie. Prin urmare, sunt desemnate *specii CAM obligate sau specii CAM flexibile*, ceea ce implică atât componenta genetică, cât şi plasticitatea fenotipică.

Paralelă C_3,C_4, CAM

Deşi procesul de fotosinteză este influenţat de numeroşi factori interni şi externi, diferenţe privind rata fotosintezei intervin chiar în condiţii identice, la specii de plante care aparţin tipurilor metabolice C_3, C_4 şi CAM.

Câteva dintre particularităţile acestor specii sunt prezentate sintetic în *tabelul 6.1.*

Tabelul 6.1.

Paralelă între plantele C_3, C_4 şi CAM (după Hoffman, 1987, citat de Sebanek, 1992)

Nr.	**Specificaţie**	**C_3**	**C_4**	**CAM**
1	Specii	*Pisum sativum* *Cucurbita pepo*	*Zea mays* *Sorghum bicolor*	*Agave americana* *Opuntia vulgaris*
2	Habitat natural	Climat temperat	Uscăciune, radiaţie solară intensă	Condiţii aride, temperaturi mari ziua şi mici noaptea
3	Structura frunzei	Mezofil diferenţiat în ţesut palisadic şi lacunos	Mezofil cu prezenţa tecii perivasculare	Mezofil cu vacuole mari
4	Structura cloroplastului	Tipic, cu grana Clorofila a : clorofila b = 3:1	Dimorfism: - în celulele mezofilului a : b = 3:1 - în teaca perivasculară, agranale a : b = 5:1	Număr mic de grana Clorofila a : clorofila b = 3:1
5	Enzime fixatoare a CO_2	RUBISCO	PEP carboxilaza şi RUBISCO (separate spaţial)	PEP carboxilaza şi RUBISCO (separate în timp)
6	Produşi primari	Acid fosfogliceric (3C)	Acid oxalacetic (4C)	Acid oxalacetic (4C)
7	Punctul de compensaţie pentru CO_2	45 – 60 μL L^{-1}	< 5 μL L^{-1}	Variabil, în jur de 200 μL L^{-1}
8	Fotorespiraţia	Atinge 1/3 din fotosinteza brută	Foarte mică sau absentă	Foarte mică
9	Valori maxime ale fotosintezei nete	15 - 30 μmol CO_2 m^{-2} s^{-1}	35 – 45 μmol CO_2 m^{-2} s^{-1}	1 – 5 μmol CO_2 m^{-2} s^{-1}
10	Rata maximă a creşterii	0,5 – 2,0 g s.u. dm^{-2} zi^{-1}	4 - 5 g s.u. dm^{-2} zi^{-1}	0,012 – 0,020 g s.u. dm^{-2} zi^{-1}
11	Producţia anuală de substanţă uscată	22,0 +,- 3,3 t $ha^{-1}an^{-1}$	38,6 +,- 16,9 3 t $ha^{-1}an^{-1}$	Variaţii mari în datele disponibile
12	Coeficientul de transpiraţie	450 – 900 g H_2O g^{-1} s.u.	250- 350 g H_2O g^{-1} s.u.	45 – 55 g H_2O g^{-1} s.u.

6.2.5. Factorii care influenţează fotosinteza

Procesul de fotosinteză este influenţat de numeroşi **factori interni** (pigmenţi asimilatori, factori care ţin de caracteristicile protoplastului, structura şi vârsta frunzelor, acumularea de fotoasimilate în relaţie cu cerinţele pentru acestea, conţinutul în elemente minerale al frunzelor, hormoni etc.), precum şi de **factori externi** (lumina, temperatura, concentraţia CO_2, concentraţia O_2, starea solului în ceea ce priveşte prezenţa apei şi a elementelor minerale, prezenţa unor poluanţi în sol şi aer etc.).

6.2.5.1. Factorii interni care influenţează fotosinteza

1. Specia Intensitatea fotosintezei variază în funcţie de tipul fotosintetic al speciei (vezi paralela C_3, C_4, CAM). Spre exemplu, la plantele C_4 cu structura Kranz, rata fotosintezei este mai mare comparativ cu plantele C_3, deoarece cloroplastele sunt situate atât în celulele mezofilului, cât şi în celulele tecii perivasculare. Dubla fixare a CO_2 asigură o productivitate mai mare. Cele mai mici valori ale intensităţii fotosintezei se înregistrează la plantele suculente din deşert, care desfăşoară tipul fotosintetic CAM.

2. Prezenţa pigmenţilor asimilatori reprezintă o condiţie de bază pentru desfăşurarea fotosintezei, având în vedere implicarea lor în captarea energiei solare şi transformarea acesteia în energie chimică. După unii cercetători, rata fotosintezei este direct proporţională cu concentraţia pigmenţilor asimilatori, deşi, nu întotdeauna datele din literatura de specialitate converg către această corelaţie.

3. Caracteristicile protoplastului, precum gradul de hidratare al acestuia influenţează spre exemplu activitatea enzimatică. Un grad corespunzător de hidratare va avea efect benefic şi din acest punct de vedere, iar rata fotosintezei va fi mai mare. Totodată, apa reprezintă materia primă pentru fotosinteză (sursă de H^+, e^-, O_2).

4. Vârsta frunzelor În frunzele tocmai formate sau etiolate nu are loc fotosinteza. La frunzele tinere, intensitatea fotosintezei este mai mică, decât intensitatea respiraţiei. Pe măsura creşterii frunzelor, capacitatea de a face fotosinteză sporeşte. Rata maximă a fotosintezei se înregistrează de regulă la frunzele mature, care au atins dimensiunea specifică. La unele specii, valorile maxime se înregistrează când frunza are o suprafaţă de 30% din maximum, până la 100%.

Pe măsura îmbătrânirii frunzei, intensitatea fotosintezei începe să scadă, probabil în strânsă corelaţie cu scăderea conţinutului de clorofilă (Jiang şi al., 2006).

5. Cantitatea de fotoasimilate şi cerinţele pentru acestea Acumularea de produşi ai fotosintezei la situsul de desfăşurare a procesului (glucoză, fructoză, pentru plantele zaharofile sau amidon tranzitoriu, la plante amidonofile) conduce la o întârziere/inhibiţie a fotosintezei. Un astfel de *mecanism feedback de inhibiţie* intervine atunci când rata de translocare şi utilizare a substanţelor organice produse, către zonele de consum sau de depozitare scade. S-a constatat spre exemplu că îndepărtarea tuberculilor, seminţelor sau fructelor (care sunt utilizatori) conduce la inhibarea fotosintezei după câteva zile, mai ales la frunzele vecine, care translocau în mod normal substanţe la aceste organe. De asemenea, speciile cu rate fotosintetice mari au şi rate relativ mari de translocare şi deci menţin fixarea rapidă a CO_2.

6. Gradul de deschidere a stomatelor influenţează pătrunderea dioxidului de carbon, materie primă în fotosinteză. Conductanţa stomatică şi fotosinteza măsurate la punctul de saturaţie pentru lumină descresc în medie cu 43% şi respectiv 33% pe parcursul sezonului secetos, de dimineaţă când tensiunea xilemului este mică, către mijlocul după amiezii, când tensiunea xilemului atinge maxima zilnică. Conductanţa stomatică reprezintă un parametru de referinţă în privinţa răspunsului fotosintetic la viţa de vie, în condiţii de uscăciune (Medrano şi al., 2002). Studiile microscopice pe baza fluorescenţei clorofilei la frunze intacte, asupra cloroplastelor celulelor de gardă dispuse abaxial au reliefat variaţii în privinţa porului stomatic, a mărimii celulelor de gardă la specii diferite, a numărului de cloroplaste, precum şi a orientării acestora (Lawson şi al., 2003).

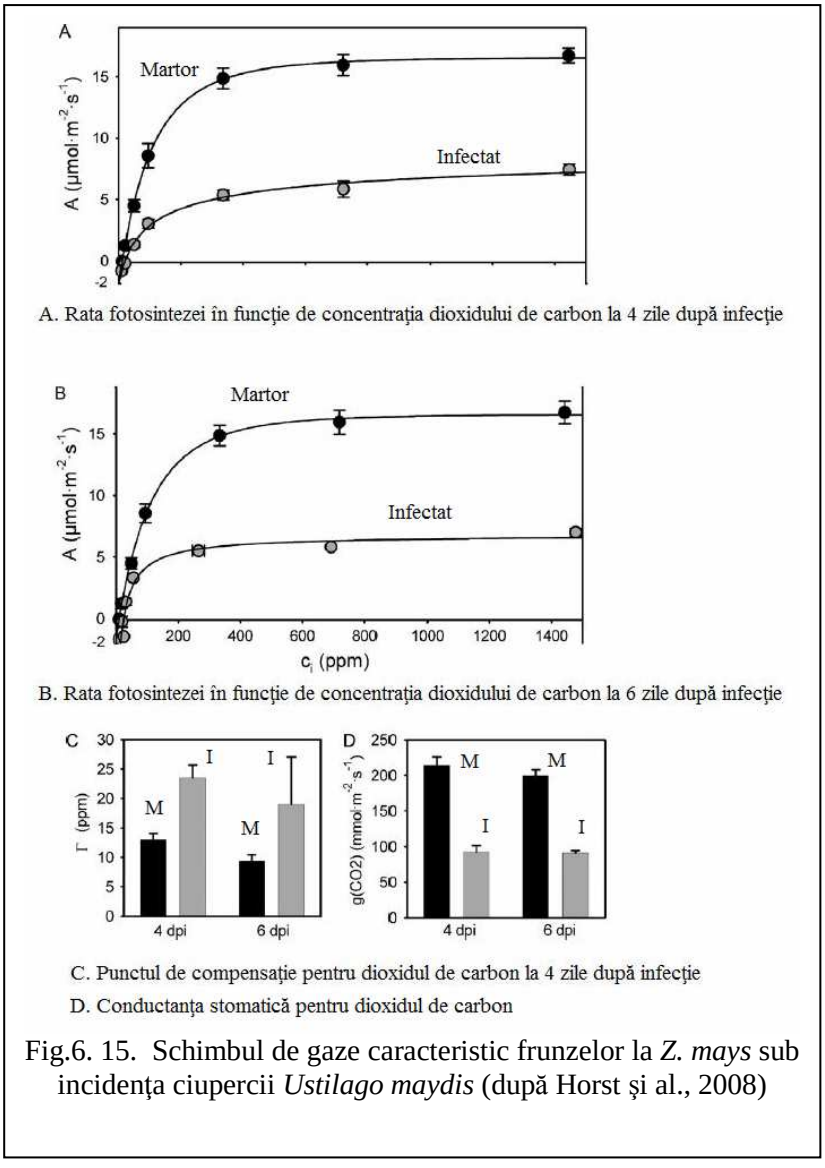
7. Conţinutul în elemente minerale din frunze Spre exemplu, un deficit de N şi Mg poate determina reducerea ratei fotosintezei.

8. Hormonii S-a demonstrat că acidul giberelic şi citochininele sporesc productivitatea fotosintezei şi activitatea carboxilazică a enzimei RUBISCO. Cercetările recente au condus la concluzia că gradienţii luminoşi în cadrul aparatului foliar al plantei au ca rezultat reducerea activităţii citochininelor în frunzele umbrite, ca o consecinţă a importului din xilem. Prin urmare, citochininele sunt implicate în reglarea aclimatizării fotosintezei întregii plante la gradienţi luminoşi (Boonman şi al., 2007).

9. Starea de sănătate a plantei

În cazul plantelor afectate de factori de stres biotic şi abiotic intervin modificări ale ratei fotosintezei, în raport cu factorul de stres, cu severitatea stresului etc.

Spre exemplu, în cazul acţiunii ciupercii *Ustilago maydis*, la *Zea mays*, în toate stadiile de dezvoltare, ciuperca a indus formarea galelor în frunze, iar răspunsul la concentraţia de CO_2, punctul de compensaţie pentru CO_2 şi activitatea enzimatică caracteristică plantelor C_3 a demonstrat ca în ţesuturile infectate a fost prevenită stabilirea fotosintezei de tip C_4 (Horst şi al., 2008) (*fig.6.15*.).



A. Rata fotosintezei în funcţie de concentraţia dioxidului de carbon la 4 zile după infecţie

B. Rata fotosintezei în funcţie de concentraţia dioxidului de carbon la 6 zile după infecţie

C. Punctul de compensaţie pentru dioxidul de carbon la 4 zile după infecţie

D. Conductanţa stomatică pentru dioxidul de carbon

Fig.6. 15. Schimbul de gaze caracteristic frunzelor la *Z. mays* sub incidenţa ciupercii *Ustilago maydis* (după Horst şi al., 2008)

6.2.5.2. Factorii externi care influenţează fotosinteza

1) Lumina reprezintă materie primă şi condiţie prioritară pentru fotosinteză. În absenţa sa procesul nu are loc.

Acţiunea sa este *directă*, prin implicarea în excitarea moleculelor de clorofilă şi fotoliza apei, dar *şi indirectă* prin controlul mişcării stomatelor (permiţând difuziunea CO_2 din mediul extern, către situsul fotosintezei).

Lumina influenţează fotosinteza prin cantitatea sa (sau intensitate), prin calitate (sau compoziţie spectrală), dar şi prin durata de acţiune.

a) Intensitatea fotosintezei este mică la valori mici ale **intensităţii luminoase** şi creşte proporţional cu creşterea intensităţii luminii, până la anumite limite. La o intensitate luminoasă foarte mare, fotosinteza este inhibată, ca urmare a solarizării constituenților celulei fotosintetice şi a închiderii stomatelor. Din acest punct de vedere, necesităţile plantelor variază cu specia. Plantele heliofile necesită o intensitate luminoasă mai mare, comparativ cu ombrofitele.

În cazul unei frunze expusă la intensităţi luminoase diferite, dar cu o concentraţie normală de CO_2 în aer (0,03%), constatarea va fi următoarea:

- la întuneric nu are loc fixarea netă de CO_2 (cu excepţia plantelor CAM);
- la lumină slabă, pierderile de CO_2 prin respiraţie depăşesc fixarea CO_2 în fotosinteză;
- după un anumit nivel al intensităţii luminii, denumit *punct de saturaţie cu lumină*, creşterea intensităţii luminii nu determină creşterea în continuare a ratei fotosintezei.

La microalge, punctul de saturaţie pentru lumină a fost atins la circa 400 μmoli fotoni $m^{-2}s^{-1}$ (Is) (*fig. 6.16.*). Se remarcă faptul că la întuneric are loc absorbţia de O_2 deoarece se realizează respiraţia şi se consumă 3 mmol O_2 [mol Chl] $^{-1}$ s^{-1}. Rata eliberării O_2 creşte linear odată cu creşterea intensităţii luminii, la valori mici ale intensităţii acesteia. Este domeniul intensităţii luminii la care fotosinteza operează cu maximum de eficienţă în procesul de conversie a energiei solare (Zhu şi al., 2008). La intensităţi luminoase mai mari, eliberarea de O_2 şi rata fotosintezei înregistrează un platou, la circa 40 mmol O_2 [mol Chl] $^{-1}$ s^{-1}. Aceasta reprezintă rata saturării fotosintezei în funcţie de lumină (F_{max}).

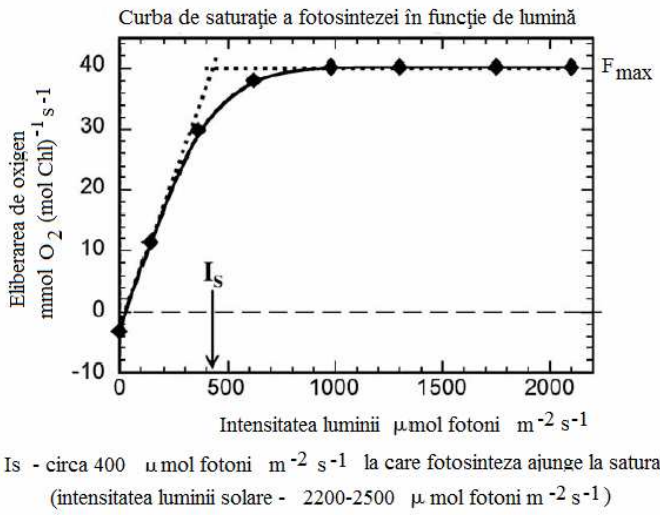


Fig. 6.16.Curba de saturaţie pentru lumină, la microalge (după Melis, 2009)

Între întuneric şi punctul de saturaţie există o intensitate a luminii la care intensitatea fotosintezei este egală cu intensitatea respiraţiei (altfel spus cele două procese se află în echilibru, deci schimbul de CO_2 este zero), denumită **punctul de compensaţie pentru lumină**. Valoarea sa variază cu specia, cu temperatura la care se face determinarea, cu concentraţia CO_2. Din acest punct de vedere sunt diferenţe majore între plantele crescute în plin soare (10-20 μmol m^{-2} s^{-1}) şi plantele de umbră (1-5 μmol m^{-2} s^{-1}). Valorile mai reduse în ultimul caz sunt explicate prin rata foarte redusă a respiraţiei, ceea ce de altfel constituie o adaptare de bază a acestor plante pentru a supravieţui în condiţii de mediu în care lumina este un factor limitativ. Doar la intensităţi luminoase situate peste punctul de compensaţie pentru lumină pot avea loc creşteri ale masei uscate a plantelor.

Fotoaclimatizarea se realizează atât la nivel de cloroplast, cât şi la nivel de frunză. La nivel de cloroplast au loc modificări privind conţinutul de proteine, pigmenţi, enzime ale ciclului Calvin, modificări ale raportului chl a / chl b; modificări ale raportului FS II / PS I etc. La nivel de frunză, intervin modificări morfologice (cele de plin soare au frunze mai groase, cu mai multe celule columnare la nivelul mezofilului). Cloroplastele plantelor de umbră conţin mai multe tilacoide, decât cloroplastele plantelor de soare. În tilacoidele plantelor crescute la umbră, raportul *clorofilă a*/*clorofilă b* este mai scăzut şi de asemenea, este o valoare redusă a raportului proteină solubilă/clorofilă. Structura cloroplastelor de pe partea umbrită a frunzelor poate fi similară cu cea a cloroplastelor plantelor de pe *„pardoseala pădurii”*.

Pentru plantele de umbră (inclusiv cele de interior), în condiţii de plin soare, rata fotosintezei este mai mică, decât la plantele cultivate sau crescute în teren deschis. Răspunsul fotosintetic este saturat la valori mici ale intensităţii luminii, comparativ cu alte specii, iar la o intensitate luminoasă scăzută, intensitatea fotosintezei este mai mare, comparativ cu alte specii. Punctul de compensaţie pentru lumină are valori mici.

Pentru plante de tip C_3, punctul de saturaţie este situat la ¼ - ½ din lumina totală solară, cu excepţia unora precum floarea soarelui, care nu devin saturate până aproape de intensitatea totală a luminii şi au maxime apropiate plantelor de tip C_4.

Pentru plantele de tip C_4, punctul de saturaţie este situat la valori foarte mari ale intensităţii luminii, chiar dublu faţă de cele de tip C_3. Intensitatea fotosintezei atinge valori chiar de peste 40 $\mu mol\ m^{-2}\ s^{-1}\ CO_2$. (*fig. 6.17.*).

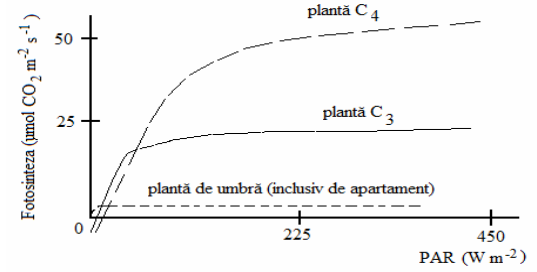


Fig. 6.17. Răspunsul a trei specii dicotiledonate la intensităţi luminoase modificate

b) În privinţa **calităţii luminii**, trebuie precizat faptul că este activă în fotosinteză lumina vizibilă a spectrului electromagnetic solar (PAR) (R- roşu: O- oranj; G-galben; V-verde; A- albastru; I- indigo şi V-violet). Cele mai active sunt radiaţiile roşii şi albastre, în timp ce radiaţiile verzi sunt slab absorbite (ele trec prin frunză sau sunt reflectate) Deci, fotosinteza este mai intensă în roşu şi albastru.

Faţă de PAR, se interpretează pe de o parte spectrul de absorbţie al pigmenţilor şi pe de altă parte spectrul de acţiune al acestora (*fig. 6.18.*). Din acest punct de vedere, în general se remarcă o oarecare suprapunere a curbelor specifice. Atât spectrul de absorbţie, cât şi cel de acţiune prezintă două maxime (în roşu şi albastru) şi un minim în verde. Discrepanţa în regiunea de absorbţie a carotenoizilor de la 450 la 550 nm indică faptul că transferul energiei de la carotenoizi la clorofile nu este atât de eficient, precum transferul între clorofile.

Experimentele bazate pe folosirea carbonului marcat au indicat faptul că, lumina roşie favorizează formarea unei cantităţi mai mari de hidraţi de carbon. Lumina albastră favorizează formarea în cantităţi mai mari a proteinelor, mai ales în condiţiile unei abundenţe de azot în nutriţia plantelor.

c) De asemenea, cantitatea totală de asimilate se corelează pozitiv cu **durata de iluminare**. S-a constatat însă că expunerea plantelor la lumină intermitentă determină obţinerea unei cantităţi mai mari de fotoasimilate, comparativ cu lumina continuă, probabil datorită folosirii produşilor fazei dependente de lumină imediat în cadrul reacţiilor enzimatice. Totodată, rata fotosintezei este mai mare la plantele expuse la lumină slabă, pentru o perioadă

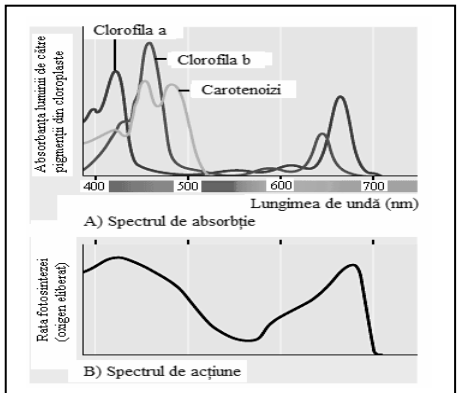


Fig. 6.18. Spectrele de absorbție și de acțiune ale pigmenților asimilatori

mai lungă de timp, decât la plantele expuse la lumină puternică, pentru perioade mai scurte de timp.

2) Temperatura Fotosinteza se realizează în limite largi ale temperaturii, în funcţie de specia de plantă (habitatul natural). Spre exemplu, lichenii pot începe fotosinteza la -18°C; cianobacteriile realizează acest proces la 75°C şi chiar peste această limită; plantele din zona temperată fotosintetizează la valori ale temperaturii cuprinse *în general între 0°C - 35°C*.

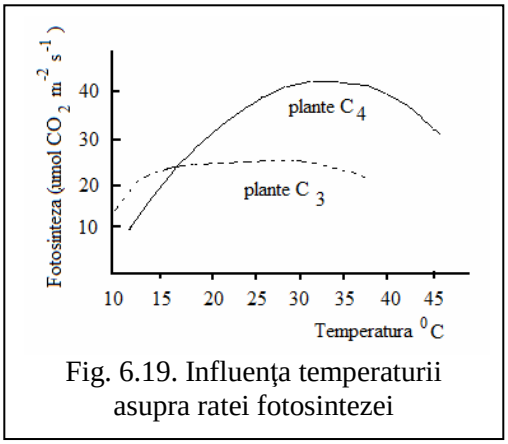


Fig. 6.19. Influenţa temperaturii asupra ratei fotosintezei

Între *0°C - 35°C*, odată cu creşterea temperaturii cu 10°C, fotosinteza se intensifică de circa 1,5 ori (Q_{10} de temperatură – legea lui Van't Hoff). La peste 30°C, eficienţa fotosintezei la plantele C_3 scade mai mult, comparativ cu situaţia celor de tip C_4. La temperaturi mari, la primele se intensifică procesul de fotorespiraţie, ca urmare a creşterii raportului O_2 dizolvat/ CO_2 dizolvat (*fig. 6.19.*).

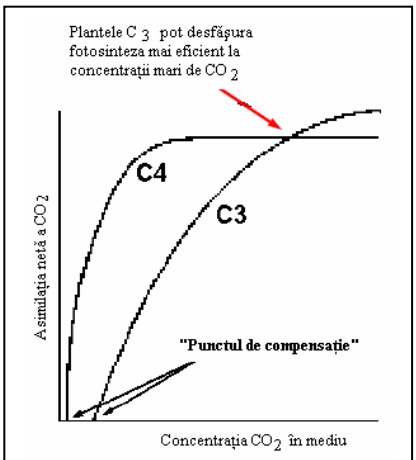
La unele plante, în zona temperată fotosinteza are loc şi la 0°C şi chiar la valori negative la unele conifere (către -35°C). Temperaturile mici inactivează enzimele, iar cele mari le denaturează, ceea ce determină reducerea, respectiv inhibarea fotosintezei.

3) Disponibilitatea CO_2 Concentraţia CO_2 în atmosferă este de 0,03% (330 ppm). O dublare (o creştere de până la 700 ppm) pentru o perioadă scurtă a concentraţiei dioxidului de carbon sporeşte productivitatea fotosintezei la plantele de tip C_3, dacă nu intervine alt factor limitativ (de exemplu intensitate luminoasă redusă). Dacă însă se depăşesc 10-15 zile, dioxidul de carbon devine toxic şi provoacă daune. La plantele C_3, una dintre explicaţii este aceea că odată cu creşterea raportului CO_2/O_2 fotorespiraţia scade şi corespunzător, valorile fotosintezei nete cresc. De asemenea, creşterea concentraţiei de dioxid de carbon determină scăderea conductanţei stomatice pentru vaporii de apă. La plantele C_4 însă, fotosinteza este în general saturată la concentraţii ale CO_2 apropiate de 400 μmol mol^{-1}, chiar în condiţiile unei intensităţi luminoase mărite.

Diferenţele sunt evidente dacă se reduce concentraţia de CO_2 sub nivelul din atmosferă, iar intensitatea luminii se menţine deasupra punctului de compensaţie pentru lumină:

- la plantele C_3 (ex. floarea soarelui) fotosinteza atinge valoarea zero la o concentraţie a CO_2 de 35-45 μmol mol^{-1};
- la plantele C_4 (ex. porumb) fixarea netă a CO_2 continuă până la concentraţii mai mici, de 0- 5 μmol mol^{-1}.

Asemenea cazului intensităţii luminoase, în cazul CO_2 se utilizează un indicator denumit - **punctul de compensaţie pentru CO_2** = concentraţia CO_2, la care cantitatea de CO_2 fixat în fotosinteză este egală cu cantitatea de CO_2 eliminată prin respiraţie (*fig. 6.20.*)


Plantele C_3 pot desfăşura fotosinteza mai eficient la concentraţii mari de CO_2
C4
C3
"Punctul de compensaţie"
Asimilaţia netă a CO_2
Concentraţia CO_2 în mediu
Fig. 6.20. Punctul de compensaţie pentru dioxidul de carbon

Dacă se scade concentraţia O_2 de la o valoare normală în aer de circa 21%, la circa 2%, diferenţele în ceea ce priveşte punctul de compensaţie pentru CO_2 pot dispărea. La plantele C_4 rămâne la fel, iar la plantele C_3 se apropie de zero.

Se pune întrebarea: care este factorul limitativ, intensitatea luminii sau concentraţia CO_2? La plantele C_3, de obicei, ambii factori sunt limitativi, dar nu în mod absolut pentru aceeaşi frunză.

În condiţii de seră, se resimte necesitatea unui plus de dioxid de carbon, pentru a se asigura o creştere maximă, mai ales iarna, când serele sunt închise. Se practică fertilizarea cu

dioxid de carbon, folosind tancuri de mare presiune, arderea unor materiale etc. Concentraţia CO_2 nu trebuie să depăşească 1000-1200 μmol mol^{-1} , căci poate deveni toxică sau determină închiderea stomatelor.

4) Concentraţia de O_2 Concentraţia normală în mediu este de 21%. O scădere la circa 2% determină o creştere a ratei fotosintezei de 1,5-2 ori. Creşterea concentraţiei de O_2 scade rata fotosintezei la plantele C_3 şi CAM, corelat cu creşterea activităţii oxigenazei şi scăderea activităţii carboxilazei la nivelul RUBISCO. În consecinţă, se ajunge la o pierdere de noi fotoasimilate, prin procesul de fotorespiraţie.

5) Umiditatea solului şi aerului Umiditatea solului influenţează negativ rata fotosintezei în cazul ambelor extreme. Insuficienţa determină ofilirea, cu consecinţe asupra celulelor asimilatoare. Excesul apei în sol determină o insuficienţă a oxigenului necesar pentru desfăşurarea procesului de respiraţie la nivelul rădăcinilor şi deci efecte negative asupra absorbţiei. O umiditate scăzută în atmosferă determină închiderea stomatelor. Asociată cu o temperatură ridicată provoacă o intensificare a transpiraţiei, mai ales la orele prânzului, vara, ceea ce conduce la o scădere a ratei fotosintezei.

6) Prezenţa elementelor minerale în sol De prezenţa unor elemente minerale în sol, precum N şi Mg depinde formarea clorofilei. O serie de alte elemente minerale influenţează desfăşurarea a diferite procese legate de fotosinteză: fosforul este necesar pentru realizarea fosforilării; manganul intervine în fotoliza apei; Cu este prezent în plastocianină etc.

7) Poluanţii atmosferici Poluanţi precum SO_2, NO_2, O_3 se dizolvă în apă la nivelul protoplastului, determină acidifierea sucului celular şi perturbă activitatea enzimatică. Este cunoscută importanţa menţinerii valorilor corespunzătoare ale pH-ului la nivel de citosol. Totodată, la valori reduse ale pH-ului are loc închiderea stomatelor şi în consecinţă se perturbă procesul de difuziune a gazelor. Desigur, impactul negativ al poluanţilor atmosferici asupra fotosintezei se înregistrează dacă concentraţia acestora depăşeşte anumite limite.

6.2.6. Legătura dintre fotosinteză şi recoltă. Măsuri de sporire a recoltei

Fotosinteza *stă la baza producţiei biologice*, respectiv – biomasă $ha^{-1}an^{-1}$.

Agronomii sunt preocupaţi de productivitatea economică a părţilor plantei, nu doar de masa totală a plantei.

Recolta agricolă este partea valoroasă, utilă din punct de vedere economic: producţia economică $ha^{-1}an^{-1}$ (masa proaspătă – seminţe, fructe, plante furajere etc.).

Recolta biologică sau *totală* este dată de fotosinteza reală (biomasă), din care se scad pierderile:

Recolta biologică = $FST – RS_1T_1 – P$

unde:

F = intensitatea fotosintezei (g s.u. $m^{-2}zi^{-1}$);
R= intensitatea respiraţiei (g s.u. $m^{-2}zi^{-1}$);
S = suprafaţa de asimilaţie (m^2); S_1 = suprafaţa de respiraţie (m^2);
T = timpul de fotosinteză (zile); T_1 = timpul de respiraţie (zile);
P = masa părţii pierdute în timpul vieţii plantei (frunze, flori, fructe, rădăcini etc.).

Alţi indicatori utilizaţi pot fi:

▪ *producţia financiară* = bani $ha^{-1}an^{-1}$;
▪ *producţia financiară netă* sau profitabilitatea (producţia financiară – costurile) = bani $ha^{-1}an^{-1}$.

Sporirea biomasei se corelează cu o serie de factori limitativi ai producţiei (*tabelul 6.2.*).

Tabelul 6.2.

Factori limitativi ai producţiei

Factori ficşi	Factori variabili	
- lumina - temperatura - concentraţia CO_2 - tipul de sol etc.	costisitori	ieftini
	- umiditatea solului (irigare) - fertilitatea solului (fertilizare) - bolile şi dăunătorii platelor (tratamente fitosanitare)	- densitatea plantelor - momentul semănatului - genotipul

Deoarece producerea recoltei şi sporirea producţiei economice nu corespund întotdeauna cu profitabilitatea, cercetările în domeniu trebuie direcţionate către obţinerea unei producţii mari, de calitate şi acceptabilă economic.

6.3. Nutriţia autotrof chimiosintetizantă

Acest tip de nutriţie este specific unor grupe de microorganisme (bacterii) lipsite de pigmenţi asimilatori (deci incapabile de fotosinteză) şi care pentru sinteza substanţelor organice folosesc energia chimică eliberată în urma unor reacţii chimice de oxidare.

1) **Bacteriile nitrificatoare** transformă NH_3 la nitrat NO_3

Nitrosomonas

$2NH_3 + 3O_2 \rightarrow 2HNO_2 + 2H_2O + E$

Nitrobacter

$2HNO_2 + O_2 \rightarrow 2HNO_3 + E$

2) **Sulfobacteriile** îşi asigură energia prin oxidarea hidrogenului sulfurat şi a sulfului elementar. Exemple: *Thiotrix, Beggiatoa, Thiobacillus*.

a) $2H_2S + O_2 \rightarrow 2S + 2H_2O + E$

b) $2S + 2H_2O + 3O_2 \rightarrow 2H_2SO_4 + E$

Sulful format pe cale microbiologică este asimilat uşor de către plantele superioare.

3) **Ferobacteriile**, precum *Thiobacillus ferrooxidans* trăiesc în apa care conţine săruri de fier şi îşi procură energia transformând sărurile feroase (II) în săruri ferice (III).

$Fe^{2+} \rightarrow Fe^{3+} + e^- + E$

4) **Hidrogenbacteriile** sunt specii cu proprietăţi morfologice şi fiziologice foarte variate (de exemplu: *Nocardia autotrophica, Pseudomonas facilis*). Crescute într-un mediu organic sunt saprofite, dar într-un mediu anorganic (care conţine H_2,O_2, CO_2) oxidează H la H_2O, cu eliberare de energie.

$2H_2 + O_2 \rightarrow 2H_2O + E$

5) **Bacterii oxidante ale monoxidului de carbon** (CO) (precum *Hydrogenomonas carboxydonorans*) oxidează CO la CO_2, în prezenţa O_2, iar energia rezultată este utilizată pentru sinteza ATP.

$2CO + O_2 \rightarrow 2CO_2 + E$

6) **Metanbacteriile** (*Methanomonas sp*.) oxidează metanul la CO_2.

$CH_4 + 2O_2 \rightarrow CO_2 + 2H_2O + E$

6.4. Nutriţia heterotrofă

Plantele saprofite (numeroase plante inferioare: bacterii, ciuperci) sunt cele care au capacitatea de a biodegrada substanţe organice complexe, hrănindu-se cu compuşii simpli rezultaţi. Se pot împărţi în două categorii:

● plante *facultativ* saprofite (care la bază sunt parazite, dar pot creşte şi ca saprofite în situaţia absenţei gazdei potrivite);

● plante *obligat* saprofite (care de drept sunt saprofite şi nu pot creşte pe organisme vii, ca parazite).

După cerinţele lor pot fi:

● plante *omnivore*, adică cele care se hrănesc cu un număr mare de compuşi organici, biodegradând o gamă largă de resturi vegetale şi animale (ex. *Penicillium*);

● plante *specializate*, adică cele care pot biodegrada numai un singur compus organic (ex. *Saccharomyces*).

Exemple de plante saprofite: bacterii (*Lactobacillus*), alge (*Polytoma*), fungi (drojdii, *Mucor*, *Penicillium*, *Agaricus*), unele specii de *Lycopodium*, angiosperme (*Monotropa*, *Neottia*).

Importanţa lor constă în faptul că ele contribuie la realizarea circuitului substanţelor în natură.

Plantele parazite sunt atât plante inferioare cât şi superioare, care extrag compuşi organici simpli din organisme vii, pe seama cărora se hrănesc şi care sunt numite plante gazdă.

Sunt două categorii de plante parazite:

1) - plante *obligat* parazite;

2) - plante *facultativ* parazite

Plantele obligat parazite nu pot trăi în absenţa gazdei (fie ca endoparazit sau ca ectoparazit), în timp ce plantele facultativ parazite sunt saprofite, dar pot creşte şi ca parazit.

Exemple de plante obligat parazite: fungi (*Pythium*, *Phytophthora* etc.), angiosperme (*Cuscuta*, *Rafflesia*).

Plantele superioare pot fi :

▪ parazite pe tulpină (ex. *Cuscuta*);

▪ parazite pe rădăcină (ex. *Orobanche*, *Lathraea*, *Rafflesia*) (*fig. 6.21.*).

Fig. 6.21. Plante parazite

Cuscuta reflexa este *Convolvulaceae* cu tulpina subţire, gălbuie, fără frunze, dar cu flori. Se propagă prin ramificaţiile tulpinii şi prin seminţele care germinează în sol. Plantulele nu au cotiledoane, sunt filamentoase, iar după un timp necesită o gazdă, altfel mor. În contact cu gazda (trifoi, lucernă, viţă-de-vie) dezvoltă haustori (printr-un proces enzimatic) şi penetrează ţesuturile vasculare de unde preia hrana. Urmează o mişcare rotativă în jurul tulpinii gazdei şi la maturitate se desprinde complet de sol, depinzând de gazdă.

Cuscuta formează vetre de atac, unde planta gazdă moare, iar planta parazită face o reţea pe suprafaţa solului. Este foarte greu de combătut. Seminţele sunt foarte mici şi greu de separat. În practică, se procedează la decuscutare.

Orobanche ramosa prezintă tulpini aeriene ramificate. Ea nu are culoare verde şi se termină cu o inflorescenţă. Haustorii pătrund în rădăcină. *Lathraea scvamaria* prezintă o tulpină cu frunze mici, gălbui, la capăt cu multe flori, iar subteran are un rizom cu solzi. Rădăcinile adventive emit haustori, prin intermediul cărora parazitează rădăcina gazdei. *Rafflesia arnoldi* este regina paraziţilor. Este cea mai mare floare, cu un diametru de 1 m şi masa de 11 kg. Este polenizată de păsări şi seminţele sunt diseminate de elefanţi.

6.5. Nutriţia mixotrofă

I. Nutriţia mixotrofă semiparazită (facultativ parazită pe tulpină)

Vâscum album este o specie tropicală de culoare verde, cu ramificaţie dichotomică (*fig.6.22.*). La noi în ţară creşte pe pomi bătrâni. Are o nutriţie fofosintetizantă, dar fiind fixată pe arbore prin

Fig. 6.22. Vâscum album

intermediul haustorilor, extrage apă şi substanţe minerale din planta gazdă. Unii specialişti consideră acest tip de nutriţie ca o simbioză.

II. Nutriţia mixotrofă insectivoră (carnivoră)

Acest tip de nutriţie caracterizează un grup de plante care trăiesc în zone mlăştinoase. Necesarul de azot şi-l asigură din aminoacizii rezultaţi din biodegradarea insectelor mici, pe care le capturează.

Astfel de plante sunt: *Nepenthes, Sarracenia, Cephalotus* (denumite plante ulcior, datorită aspectului frunzelor), *Drosera, Dionaea* etc. (*fig. 6.23.*).

1) *Nepenthes* cuprinde 67 specii ale familiei *Nepentheaceae* şi trăieşte în regiunile tropicale ale Australiei şi Asiei, ca plantă agăţătoare, arbust sau epifită. Prezintă frunze mari, cu baza largă fotosintetizantă şi la capete cu ulcioare cilindrice (20-25 cm lungime).

Insectele sunt atrase de capacul colorat al ulciorului şi de mirosul substanţelor secretate în ulcior, prin intermediul celulelor secretoare. Spre partea anterioară a ulciorului sunt perişori cu vârful îndreptat în jos. Insecta este capturată şi digerată până la aminoacizi, care sunt absorbiţi de plantă. Ceea ce rămâne urmează a fi biodegradat de bacterii şi alte microorganisme. Peţiolul este ca un cârcel alungit, contribuind la menţinerea ulciorului în poziţie verticală, prin prinderea de un suport.

2) *Sarracenia* cuprinde 10 specii şi aparţine familiei *Sarraceniaceae*. Trăieşte în regiunile temperate de-a lungul Atlanticului. Mai populară este specia *Sarracenia purpurea*. Este o plantă acvatică şi spre deosebire de *Nepenthes*, aici, întreaga frunză este transformată în ulcior şi frunzele sunt sesile.

Insectele sunt atrase de către nectarii şi de către capacul colorat al ulciorului. Perii zonei glandulare superioare previn scăparea insectelor şi urmează descompunerea lor prin intermediul bacteriilor.

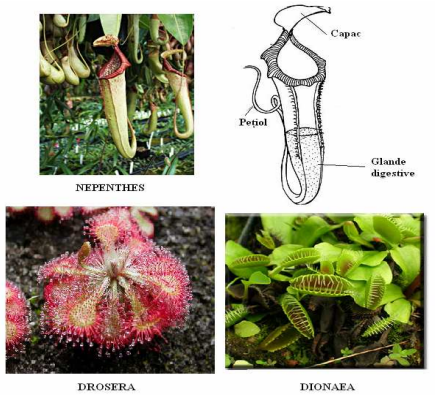


Fig. 6.23. Plante carnivore

3) *Drosera* aparţine familiei *Droseraceae*, cu 6 genuri, dintre care mai cunoscute sunt *Drosera, Dionaea* şi *Aldrovanda*.

Drosera cuprinde 100 specii care trăiesc în Africa de Sud şi Australia. Este o plantă acvatică, mai comună fiind *D. rotundifolia*. Are frunze rotunjite: la plantele mature sunt 6-12 frunze dispuse în rozetă. Pe partea superioară acestea au peri – tentacule, umflate, cu vârf care secretă un suc roşietic ce străluceşte în lumina soarelui, ca picăturile de rouă. Aşa se explică şi denumirea plantei: „ roua soarelui”.

Insectele sunt atrase de picăturile secretate, iar tentaculele se curbează alcătuind o capcană. Fluidul conţine mai ales proteaze, care biodegradează insecta la aminoacizi. După absorbţia aminoacizilor, poziţia tentaculelor se restabileşte, pentru a se capta o nouă insectă.

4) *Dionaea* este un gen care cuprinde o singură specie – *D. muscipula*, care trăieşte în SE Americii. Frunzele sunt dispuse în rozetă, peţiolul este bine dezvoltat, iar lamina are la vârf doi lobi modificaţi în două fălci, fiecare falcă cu câţiva dinţi. Lobii sunt în legătură la mijlocul capacului şi deschişi într-un unghi de 40-45 ^{0}, formând o trapă. Partea superioară a fiecărei fălci prezintă 3 peri senzitivi, conţin glande mici digestive şi sunt denumiţi peri trăgaci.

Dacă o insectă se aşează pe capcană, părul senzitiv este stimulat, stimulul se transmite la capacul median şi provoacă curbarea lobilor laminei. În acelaşi timp, spinii marginali se întrepătrund, ceea ce ajută la capturarea insectei. Urmează digestia efectuată de către substanţele secretate de glandele digestive, iar proteinele sunt biodegradate la aminoacizi. După completa digestie a insectei, frunzele îşi revin, pentru a efectua o nouă captură.

Întrebări

1. Care sunt tipurile de nutriţie cu carbon la plante ?
2. Fotosinteza: definiție, ecuaţie generală, importanţă.
3. Organul şi organitul specializat pentru fotosinteză. Argumente.
4. Tipurile de pigmenţi asimilatori şi proprietăţile acestora.
5. Lumina: condiție prioritară pentru fotosinteză.
6. Mecanismul fotosintezei: aspecte generale.
7. Faza dependentă de lumină: localizare la nivel celular şi procese principale realizate.
8. Faza enzimatică a fotosintezei: localizare la nivel celular şi procese principale realizate.
9. Fotorespiraţia: definiţie, organite celulare implicate, importanţă fiziologică.
10. Paralelă între plantele C3, C4 şi CAM.
11. Principalii factori interni care influenţează fotosinteza şi importanţa practică.
12. Principalii factori externi care influenţează fotosinteza şi importanţa practică.
13. Relaţia dintre fotosinteză şi recoltă.

Bibliografie selectivă

Agrawal, D.C. 2010. Photosynthetic solar constant. Lat. Am. J. Phys. Educ., Vol. 4: 46-50.

Boonman, A. şi al. 2007. Cytokinin import rate as a signal for photosynthetic acclimation canopy light gradients. Plant Physiology, Vol. 143: 1841- 1852.

Horst, R.J., Engelsdorf, T., Sonnewald, U., Voll, L.M. 2008. Infection of maize leaves with *Ustilago maydis* prevent establishement of C_4 photosynthesis. Journal of Plant Physiology, Vol. 165: 19-28.

Jiang, C.H., Gao, H.Y., Zou, Q., Jiang,G.M. și Li, L.H. 2006. Leaf orientation, photorespiration and xanthophyll cycle protect young soybean leaves against high irradiance in field. Environmental and Experimental Botany, Vol. 55: 87- 96.

Keeley, J.E. and Rundel, P.W. 2003. Evolution of CAM and C_4 carbon- concentration mechanisms. Int. J. Plant Sci. 164 (3 Suppl): S55-S77).

Kebeish și al. 2007.Chloroplastic photorespiration bypass increases photosynthesis and biomass production in *Arabidopsis thaliana*. Nat. Biotechnol., Vol. 25: 593-599.

Khan, M.S. 2007. Engineering photorespiration in cloroplasts: a novel strategy for increasing biomass production. Trends in Biotechnology, Vol. 25: 437- 440.

Krause, G.H. 1988. Photoinhibition of photosynthesis. An evaluation of damaging and protective mechanisms. Physiologia Plantarum. Vol.74: 566- 574.

Medrano, H. și al. 2002. Regulation of photosynthesis of C_3 plants in response to progressive drought: stomatal conductance as a reference parameter. Annals of Botany, Vol. 89: 895- 905.

Müller, P. și al. 2001. Non-photochemical quenching. A response to excess light energy. Plant Physiology, Vol. 125: 1558- 1566.

Noctor, G. Și Foyer, C.H. 1998. A re-evaluation of the ATP: NAD(P)H budget during C_3 photosynthetic contribution from nitrate assimilation and its associated respiratory activity. J. Exp. Bot., Vol. 49: 1895-1897.

Somerville, C. 2001. An early *Arabidopsis* demonstration. Resolving a few issues concerning photorespiration. Plant Physiology, Vol. 125: 20 - 24.

Szabó, J. și al. 2005. Light and oxygenic photosynthesis: energy dissipation as a protection mechanism against photo- oxidation. EMBO Reports, Vol. 6: 629- 634.

Taler, D., Galperin, M., Benjamin I., Cohen, Y. și Kenigsbuch, D. 2004. Plant R genes that encode photorespiratory enzymes confer resistance against disease. Plant Cell, Vol. 16: 172- 184.

Zhu, X.G., Long, S.P., Ort, D.R. 2008. What is the maximum efficiency with photosynthesis can convert solar energy into biomass ?. Current Opinion in Biotechnology, Vol.19: 153-59.

CAPITOLUL 7

TRANSPORTUL SUBSTANŢELOR ORGANICE ÎN PLANTE

Cuvinte cheie: *floem, sevă elaborată, translocare, curent de masă sub presiune generat osmotic, alocare, partiţie*

Obiective:
- cunoaşterea interrelaţiei dintre structura floemului şi rolul său fiziologic;
- cunoaşterea tipurilor şi formelor de substanţe translocate prin intermediul floemului;
- cunoaşterea şi înţelegerea mecanismului de translocare prin floem;
- cunoaşterea proceselor de depozitare a substanţelor de rezervă;
- cunoaşterea factorilor care influenţează translocarea şi a modalităţilor de sporire a recoltei edibile;

REZUMAT

Transportul substanţelor organice în plante se realizează prin intermediul unui ţesut specializat, respectiv prin floem. Acest transport pe distanţe mari poartă denumirea de translocare. Există o serie de dovezi ale translocării asimilatelor prin floem, precum: decorticarea inelară, inelarea scalariformă, analiza chimică a sucului floemic, utilizarea izotopului radioactiv $^{14}CO_2$ sau tehnica folosirii afidelor. Din punct de vedere structural, floemul constă din: celule liberiene, celule anexe, celule parenchimatice şi în unele cazuri fibre, sclereide, celule care conţin latex (laticifere). Între particularităţile structurale şi rolul fiziologic al floemului există o strânsă interrelaţie. Sensul de translocare a asimilatelor este dinspre zonele de formare (de la surse), către zonele de metabolizare sau de depozitare (către utilizatori). Direcţia de transport poate fi una ascendentă, descendentă şi radială (laterală), având în vedere anumite reguli anatomice şi de dezvoltare. În general, viteza transportului se situează la o medie de circa 1 m h^{-1}, cu variaţii de la 30 la 150 cm h^{-1}. Seva elaborată (sucul floemic) conţine cantităţi mari de substanţe dizolvate, în medie 15-25% substanţă uscată, iar pH-ul are valori mari (7-8). Apa reprezintă componentul major. Odată cu apa sunt transportate în principal glucide, dar şi aminoacizi, proteine, acizi organici, proteine, potasiu, clor, fosfat, magneziu, hormoni. În privinţa glucidelor, principala formă de translocare o reprezintă zaharoza. Translocarea de la celulele sursă, către celulele utilizator constă în parcurgerea a trei etape: un transport pre-floem (pe distanţă mică), un transport prin floem pe distanţe mari şi un transport post-floem (pe distanţă mică). Pentru a explica transportul prin floem, astăzi, cea mai acceptată ipoteză este cea a curentului de masă sub presiune generat osmotic. În privinţa depozitării substanţelor în diferite organe de depozitare sunt de remarcat anumite caracteristici în funcţie de specie şi de organ Procesul de translocare este influenţat de factori externi şi interni, precum: lumina, temperatura, oxigenul, umiditatea, elementele minerale, hormonii, înhibitorii etc. Alocarea presupune reglarea distribuţiei glucidelor către diferite căi metabolice, respectiv către diferite forme de substanţe. Partiţia presupune distribuţia diferenţiată a glucidelor în plantă, către diferite ţesuturi. Pentru sporirea recoltei edibile, faţă de recolta biologică, una dintre cele mai recente modalităţi este selecţia şi extinderea în cultură a unor soiuri caracterizate prin perfecţionarea transportului asimilatelor către părţile edibile ale plantelor. De asemenea, scopul cercetărilor în domeniu este şi acela de a aplica măsuri eficiente în cadrul tehnologiilor de cultivare a plantelor, pentru a reduce la minimum pierderile de fotoasimilate.

Produşii fotosintezei sunt transportaţi din frunzele mature, către zonele de creştere (frunze tinere, vârfuri de creştere, rădăcini în formare, flori, fructe) dar şi către cele de depozitare (inclusiv rădăcini) prin intermediul unui *ţesut specializat*, respectiv prin *floem*. Acest transport pe distanţe mari poartă denumirea de **translocare.** Floemul serveşte de asemenea la transportul apei, precum şi a altor diferiţi compuşi în întreaga plantă. Unii dintre aceştia ajung în frunzele mature prin xilem. O parte dintre aceştia pot fi transferaţi din frunze, fără a suferi vreo modificare sau alţii pot fi metabolizaţi înaintea redistribuirii.

7.1. Particularităţi structurale şi funcţionale ale floemului

Interrelaţia dintre structura floemului şi rol său fiziologic

Floemul este alcătuit din:

- *celule liberiene*;
- *celule anexe*;
- *celule parenchimatice*;
- în unele cazuri *fibre*, *sclereide*, celule care conţin latex (laticifere) (*fig. 7.1.*).

Celulele liberiene mature se caracterizează prin anumite particularităţi structurale, care le deosebesc de alte celule vii ale plantelor:

- de obicei nu au nucleu şi tonoplast;
- sunt lipsite de microtubuli, microfilamente, Compexe Golgi şi ribozomi;
- posedă plasmalemă şi anumite organite oarecum modificate, precum mitocondrii, plastide şi reticul endoplasmatic neted;
- pereţii celulari sunt nelignificaţi.

Deci, celulele liberiene se deosebesc de vasele lemnoase ale xilemului, care sunt celule moarte, fără plasmalemă şi care au pereţii celulari secundari lignificaţi.

Celulele liberiene se caracterizează de asemenea prin existenţa unor suprafeţe care prezintă pori (a unor site). Diametrul porilor variază de la mai puţin de 1 µm, până la circa 15 µm. *La gimnosperme*, toate zonele sită sunt mai mult sau mai puţin asemănătoare. Porii sunt relativ nespecializaţi şi par a fi umpluţi cu diferite membrane aflate în cavităţi mediane ale pereţilor celulari, fiind continue cu RE_n opus zonei sită.

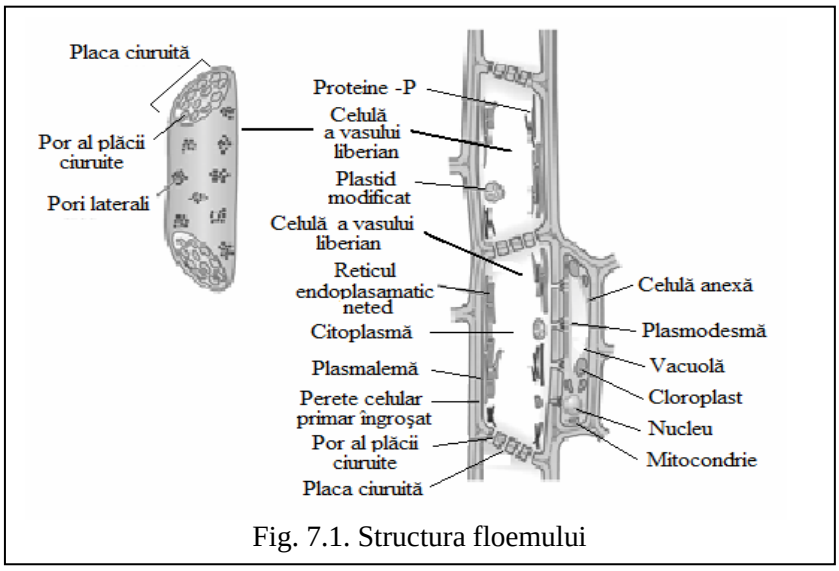


Fig. 7.1. Structura floemului

La angiosperme există o specializare mai pronunţată a celulelor liberiene. Astfel, în unele zone se diferenţiază ***plăci ciuruite.*** Plăcile ciuruite prezintă pori mai mari, situaţi în general la capetele celulelor liberiene şi se formează o serie longitudinală de celule, care alcătuiesc vasul ciuruit. Plăcile ciuruite sunt de fapt canale deschise, care permit transportul între celule (*fig.7.2.*).

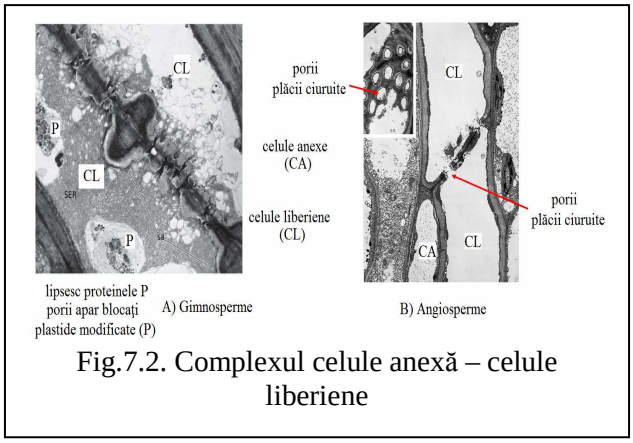


Fig.7.2. Complexul celule anexă – celule liberiene

La dicotiledonate, vasele liberiene sunt de obicei bogate în proteina floemică numită ***proteina – P*** (*phloem protein*)**.** Această proteină lipseşte la gimnosperme şi este întâlnită rar la angiosperme monocotiledonate. Proteina se poate afla sub formă diferită (tubulară, fibrilară, granulară şi cristalină) în funcţie de specie şi de vârsta celulei. Funcţia proteinei- P pare a fi sigilarea celulelor liberiene deteriorate, prin etanşeizarea porilor plăcii ciuruite.

Pe termen lung, o soluţie la problemele deteriorării în cazul multor specii de plante este producerea calozei (β-1-3 glucan) în porii sitei. Sinteza calozei se realizează prin intermediul enzimei calozo sintaza situată în plasmalemă. Substratul este asigurat din zona citoplasmatică, iar produşii sunt depozitaţi între plasmalemă şi peretele celular. Depunerea *calozei de rană* apără în mod eficient ţesutul. Pe măsura revenirii la starea normală, caloza dispare din aceşti pori. *Caloza definitivă* se poate depune în cazul celulelor moarte sau vaselor liberiene supuse obturării, datorită formării ţesuturilor secundare. La plantele perene se poate depune caloza asociată stării de dormanţă - *caloza de dormanţă*, urmând ca în primăvară să aibă loc dizolvarea acesteia.

Fiecare vas liberian este asociat cu una sau mai multe **celule anexe.** Cele două tipuri de celule rezultă prin diviziunea unei singure celule mamă. Celulele anexă sunt de trei tipuri: *celule anexe obişnuite*, *celule de transfer* şi *celule intermediare*. Pentru *celulele anexe obişnuite*, cloroplastele conţin tilacoide bine dezvoltate, peretele celular este neted şi este străbătut de un număr relativ mic de plasmodesme. La unele dicotiledonate ierboase, transferul substanţelor către vasele liberiene este facilitat de existenţa unor invaginări ale peretelui celular în cazul unor celule anexe sau celule parenchimatice. Prin aceasta se măreşte suprafaţa plasmalemei, necesară pentru preluarea asimilatelor în cursul exportului (Ade-Ademilua şi Botha, 2008). Astfel de celule se denumesc *celule de transfer* (*fig.7.3.*). La gimnosperme, funcţia celulelor anexe este preluată de *celulele albuminoide* (care nu provin din aceeaşi celulă mamă, precum la angiosperme). Ambele tipuri de celule anexe sunt specializate pentru preluarea substanţelor din apoplast. *Celulele intermediare* au numeroase plasmodesme, care asigură conexiunea cu celulele vecine. Au numeroase vacuole mici, lipsesc grăunciorii de amidon din cloroplaste şi tilacoidele sunt slab dezvoltate. Rolul lor este de a realiza transportul prin simplast a glucidelor, de la celulele mezofilului, către vasele liberiene, în situaţia în care nu se realizează transportul prin apoplast.

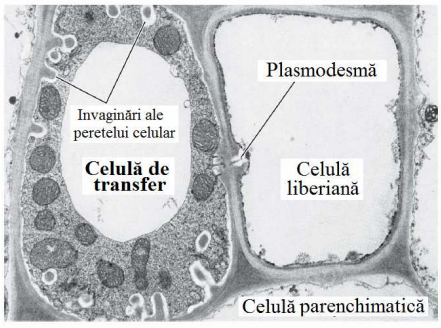


Fig.7.3. Celulă de transfer

Dintre *funcţiile metabolice critice ale celulelor anexe* se pot aminti: sinteza proteinelor, suplimentarea cu ATP (graţie prezenţei a numeroase mitocondrii), precum şi transportul asimilatelor de la celulele producătoare ale mezofilului, către celulele liberiene. Celulele parenchimatice asigură transportul lateral şi totodată ele depozitează hrană.

Fibrele floemice au rol de suport în cadrul ţesutului, fără a fi implicate în procesul de translocare.

Dovezi ale translocării substanţelor organice prin floem

Experimentele clasice bazate pe **decorticarea inelară** (Marcello Malpighi, 1686, apoi Mason şi Maskell, 1928) (*fig. 7.4.*), respectiv îndepărtarea parenchimului cortical şi a liberului sub forma unui inel în jurul tulpinii unei plante lemnoase cu ramuri şi frunze (deci în cursul vegetaţiei) au condus la concluzia că intervenţia nu a avut efect imediat asupra transpiraţiei. În schimb, transportul glucidelor a fost blocat în zona în care s-a îndepărtat scoarţa. Glucidele s-au acumulat deasupra inelării, deci în zona dinspre frunze, în timp ce în partea inferioară ţesuturile au fost private de glucide. Pe această bază, se practică în horticultură aşa numitul procedeu de decorticare a ramurilor, cu scopul de a favoriza creşterea formaţiunilor situate în partea de deasupra.

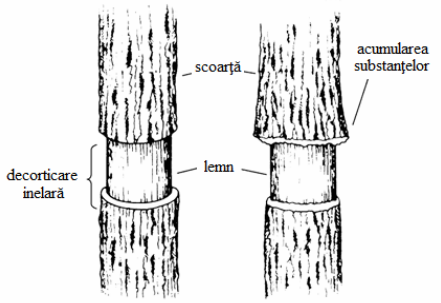


Fig.7.4. Decorticarea inelară şi efectele sale

Metoda inelării scalariforme a fost folosită în ţara noastră de către Em. C. Teodorescu şi C.T. Popescu (1915) şi s-a precizat rolul ţesutului liberian în transportul fotoasimilatelor în plante. La nivelul zonei inelate s-a lăsat o fâşie îngustă de scoarţă şi liber, în plan orizontal, legată fiind această zonă cu partea neafectată. S-a constatat formarea de elemente liberiene noi, în partea inferioară a fâşiei orizontale. În partea de sus şi pe prima treaptă a decorticării s-a format un ţesut de cicatrizare. Experienţa a condus la concluzia că transportul ascendent şi descendent al sevei elaborate se face prin vasele liberiene şi într-o mai mică proporţie prin parenchimul liberian.

Analiza chimică a floemului la plantele de bumbac (Mason şi Maskell, 1928-1934) a demonstrat acumularea substanţelor hrănitoare în floem.

Aplicarea izotopului radioactiv $^{14}CO_2$ (Rabideau şi Burr, 1945) la o frunză iluminată şi monitorizarea substanţelor marcate pe traseul ascendent şi descendent în tulpină, la punctul de ataşare a frunzei a indicat faptul că floemul este calea de translocare a substanţelor în plante.

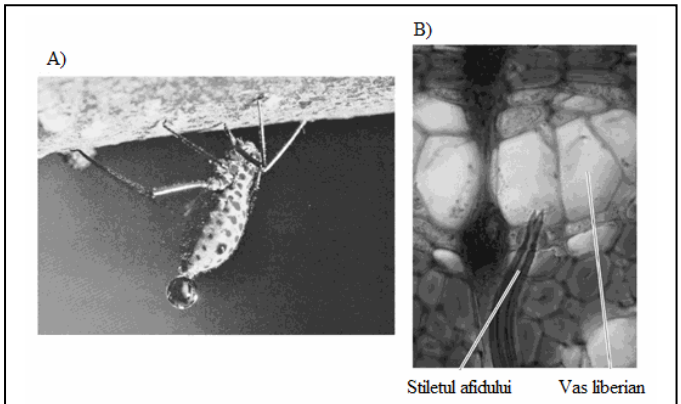


Fig. 7.5. Tehnica folosirii afidelor

Tehnica folosirii afidelor (Kennedy şi Mittler, 1953) presupune inserţia stiletului într-o celulă liberiană. După 2-3 ore de hrănire are loc anestezierea insectei, tăierea stiletelui, colectarea sevei elaborate şi ulterior analiza sucului din stilet (*fig. 7.5.*) (Esau, 1961). Principala substanţă organică identificată a fost zaharoza.

Direcţia de transport a substanţelor prin floem

În general, se afirmă că transportul prin xilem este realizat în sensul rădăcină, către părţile aeriene ale plantelor, deci ascendent, iar transportul prin floem este efectuat în sens invers, descendent. Trebuie precizat faptul că transportul prin floem nu se realizează în mod exclusiv într-o anumită direcţie. *Sensul de translocare a asimilatelor este dinspre zonele de formare* (**de la surse**), *către zonele de metabolizare sau de depozitare* (**către utilizatori**).

În categoria **surse** sunt incluse:

- un organ exportator, în mod tipic o frunză matură, care produce în exces faţă de propriile nevoi;
- un organ de depozitare, pe parcursul fazei de export a dezvoltării sale.

În categoria **utilizatori** sunt incluse:

- orice organ nefotosintetizant al plantei sau organe fotosintetizante, care nu produc suficienţi produşi pentru asigurarea propriilor nevoi de creştere sau necesităţilor de depozitare (ex.: rădăcini, tuberculi, fructe în dezvoltare, frunze imature).

Direcţia de transport poate fi una *ascendentă*, *descendentă* şi *radială* (laterală).

În general, transportul prin floem este unul descendent, de la frunze, către rădăcini, deci de la părţile verzi unde are loc biosinteza hranei, către părţile non-verzi ale plantei. Direcţia ascendentă intervine în cazul seminţelor în curs de germinare sau în cazul apexurilor tulpinii situate deasupra

aparatului foliar. În cazul seminţelor în curs de germinare are loc hrănirea viitoarei plantule prin mobilizarea substanţelor organice de rezervă, iar în cazul apexurilor acestea sunt aprovizionate cu fotoasimilate. Un transport ascendent se poate evidenţia şi în cazul apariţiei de noi creşteri vegetative la pomii fructiferi, în cursul perioadei de primăvară. La fructele în creştere şi seminţe în curs de dezvoltare se realizează un transport radial, pe principul sursă - utilizator.

De asemenea, există şi un *transport bidirecţional*, în apropierea apexurilor sau a punctelor de creştere a nodurilor tulpinii. Substanţele nutritive primite de la frunzele mature sunt transportate către punctele de creştere, deci ascendent, dar şi descendent, către zonele de depozitare sau către anumite zone de consum.

Un organ poate fi la un moment dat sursă, iar la un alt moment dat utilizator. Spre exemplu, rădăcina de depozitare la sfecla sălbatică bienală (*Beta vulgaris ssp. maritima*) este utilizator pe parcursul primului sezon de creştere. Astfel, acumulează glucide de la frunzele sursă, iar în sezonul al doilea aceeaşi rădăcină devine sursă. Are loc mobilizarea glucidelor şi utilizarea lor pentru producerea de noi organe aeriene şi în final formarea organelor reproductive. La sfecla de zahăr cultivată (*Beta vulgaris ssp. vulgaris*) rădăcina îşi poate spori masa uscată pe parcursul ambelor sezoane. Prin urmare, frunzele reprezintă sursa pe parcursul stadiilor de înflorire şi fructificare. În acest caz s-a realizat selecţia pentru capacitatea rădăcinilor de a acţiona ca utilizatori pe parcursul tuturor stadiilor creşterii şi dezvoltării.

În privinţa interrelaţiei dintre sursă şi utilizator trebuie precizat faptul că se respectă anumite reguli anatomice şi de dezvoltare. Astfel, la plantele erbacee pot fi considerate următoarele aspecte generale:

1)► *apropierea sursă-utilizator* reprezintă un factor semnificativ;

Frunzele mature superioare aprovizionează cu asimilate vârfurile tulpinilor în creştere, frunzele imature, în timp ce frunzele bazale aprovizionează în special rădăcinile. Frunzele dispuse median asigură cu asimilate în ambele sensuri.

2) ► *pe parcursul creşterii şi dezvoltării plantelor se modifică importanţa unor utilizatori*;

Dacă pe parcursul creşterii vegetative utilizatorul principal îl reprezintă rădăcina şi vârfurile în creştere, în timpul dezvoltării reproductive, asimilatele sunt direcţionate primordial către fructe. În cazul frunzelor, pe parcursul procesului gradual de evoluţie are loc tranziţia de la utilizator, la sursă. Spre exemplu, frunzele plantelor dicotiledonate îşi încep dezvoltarea ca organe utilizator. Tranziţia către statutul sursă începe mai târziu, când frunza are o mărime de circa 25% şi este completă când frunza a atins 40-50% din mărimea caracteristică.

La pomii tineri, direcţia asimilatelor este preponderent către organele vegetative: trunchi, frunze, rădăcini. La pomii pe rod, transportul este direcţionat către fructe şi tulpini. Desigur, prezintă importanţă şi forma de coroană. Astfel, în cazul plantaţiilor super intensive, direcţia de transport a asimilatelor este preponderent către fructe şi frunze, în timp ce în plantaţiile clasice, către trunchi şi coroană.

3) ► *frunzele cu rol de sursă vor aproviziona utilizatorii cu care au legături vasculare directe*;

4) ► *în cazul în care intervin tăieri sau răniri* şi sunt afectate căile de transport dintre surse şi utilizatori, *pot să apară căi alternative* pentru translocarea asimilatelor;

De altfel, anumite intervenţii efectuate plantelor horticole, precum tăierile la pomi, îndepărtarea copililor (ex. la tomate), cârnitul sau ciupitul etc. sunt menite să direcţioneze asimilatele către utilizatorii de maxim interes, în vederea unei productivităţi maxime.

Viteza de transport a substanţelor prin floem

Viteza de transport a substanţelor prin vasele liberiene poate fi exprimată pe două căi:

▪ *viteză de transport* - distanţă lineară parcursă în unitatea de timp (cm h^{-1});
▪ *rată a transferului de masă* - cantitatea de material care trece printr-o secţiune transversală a vaselor liberiene, în unitatea de timp (g $cm^{-2}h^{-1}$);

Ambii indicatori pot fi determinaţi folosind substanţe marcate radioactiv. Cel mai simplu experiment este cel care utilizează marcarea cu ^{11}C sau ^{14}C a CO_2, aplicarea la o frunză sursă şi ulterior monitorizarea cu un detector adecvat pe traseu sau la sosire, la ţesutul utilizator.

În general, rata transportului se situează la o **medie de circa 1 m h^{-1}**, cu variaţii de la 30 la 150 cm h^{-1}. Spre exemplu: la sfecla de zahăr, rata translocării este de 85-100 cm h^{-1}, iar la trestia de zahăr 270 cm h^{-1}. Este evident faptul că viteza de transport este mare şi depăşeşte rata unei difuziuni pe distanţe mari. În consecinţă, de acest aspect se ţine cont în redarea explicaţiilor cu privire la mecanismele propuse în privinţa explicării transportului prin floem.

7.2. Substanţe translocate şi mecanismul de translocare prin floem

7.2.1. Tipuri şi forme de substanţe translocate prin floem

Seva elaborată conţine cantităţi mari de substanţe dizolvate, în medie 15-25% substanţă uscată, iar pH-ul are valori mari (7-8).

În privinţa **tipurilor de substanţe translocate prin floem**, cantitativ, cea mai abundentă substanţă este apa, în care sunt dizolvate diferite substanţe. Dintre substanţele organice, glucidele ocupă ponderea (*tabelul 7.1.*), iar dintre acestea, zaharoza poate atinge 90% din substanţele dizolvate. De asemenea, sunt prezenţi în cantităţi mari aminoacizii. Glutamina şi asparagina pot reprezenta 90% din această fracţie. Nitratul şi amoniul sunt de obicei în cantităţi mici (Van Bensichem şi al., 1988). Sunt de asemenea abundenţi acidul citric şi acidul malic. Se află totodată vitamine, hormoni, proteine şi ATP. Dintre elementele minerale, potasiul este prezent în cea mai mare concentraţie, urmat de fosfor, magneziu şi sulf. Concentraţia calciului este foarte mică.

Tabelul 7.1.

Compoziţia sucului floemic la Ricinus communis (după Hall şi Baker, 1972)

Componentul	**Concentraţia (mg ml^{-1})**
GLUCIDE	***80,0- 106,0***
Aminoacizi	5,2
Acizi organici	2,0-3,2
Proteine	1,45-2,20
K	2,3-4,4
Cl	0,355-0,675
PO_4^{2-}	0,350-0,550
Mg	0,109-0,122

Pentru glucide, *principala formă de transport o reprezintă* ***zaharoza.*** Este un glucid nereducător şi se consideră că glucidele nereducătoare sunt mai puţin reactive. Glucidele reducătoare precum glucoza, manoza sau fructoza conţin expusă o grupare aldehidă sau cetonă şi sunt foarte reactive. De asemenea, sunt şi *alţi hidraţi de carbon mobili*, care conţin zaharoză legată de un număr variabil de molecule de galactoză: zaharoză + 1 moleculă galactoză = rafinoză; zaharoză + 2 molecule galactoză = stahioză; zaharoză + 3 molecule galactoză = verbascoză.

Sub formă de polioli, glucidele se transportă ca manitol şi sorbitol (*fig. 7.6.*). Sorbitolul prezintă cea mai mare importanţă în cazul speciilor: *Malus, Pyrus, Persica* etc.

Azotul este transportat în proporţie mare sub formă de aminoacizi şi amide (acid glutamic/ glutamină, acid aspartic/ asparagină). În general, în plante, compuşii cu azot sunt transportaţi sub forme diferite, în raport cu calea fasciculară de transport:
- prin floem, aproape în totalitate sub formă organică;
- prin xilem, fie ca nitrat, fie ca parte a unei molecule organice.

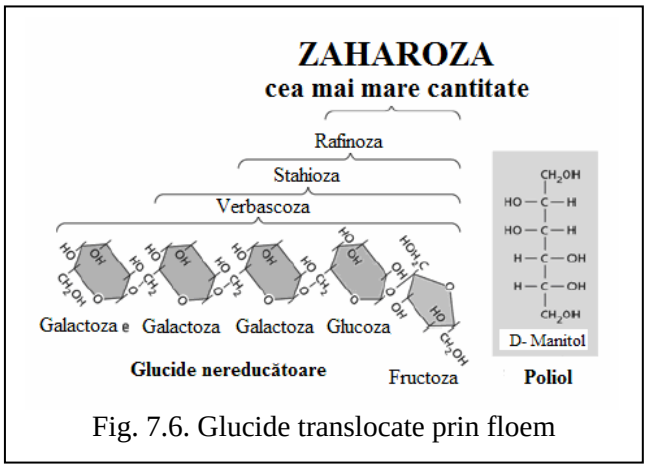


Fig. 7.6. Glucide translocate prin floem

În cazul xilemului, forma de transport a azotului depinde de specia luată în studiu. Speciile care nu dispun de o asociaţie simbiotică depind de nitratul din sol. La cele care posedă noduli, există o dependenţă faţă de N_2 atmosferic, mai degrabă decât de nitratul din sol. După conversia la forma organică, azotul este transportat prin xilem, de obicei ca amide sau ureide (alantoină, acid alantoic, citrulină). La alte specii, în xilem sunt prezente atât forma nitrat, cât şi molecule organice bogate în azot (amide: asparagină, glutamină). De menţionat faptul că, în toate cazurile în care azotul este asimilat în compuşi organici în rădăcini, atât energia necesară cât şi scheletele de carbon pentru asimilare derivă din asimilatele transportate către rădăcini, pe calea floemului.

În frunzele mature, nivelele azotului sunt menţinute la valori stabile. Se indică faptul că cel puţin o parte din excesul compuşilor cu azot sosiţi pe calea xilemului trebuie să fie redistribuită prin floem, către fructe şi frunze tinere. Pe parcursul senescenţei frunzelor cresc concentraţiile compuşilor cu azot în floem. Spre exemplu, la specii lemnoase, frunzele senescente mobilizează şi exportă compuşi cu azot în ţesutul lemnos, în vederea depozitării la acest nivel. La plantele ierboase însă, exportul este direcţionat în general către seminţe. Ionii minerali sunt de asemenea redistribuiţi din frunzele senescente, după aceeaşi regulă.

De asemenea, hormonii, precum auxine, gibereline, citochinine şi acid abscisic sunt în parte transportaţi prin floem. Lipidele se găsesc în cantitate mică în exudatele floemice. Sunt transportaţi şi nucleotid-fosfaţi, enzime, vitamine, substanţe anorganice (K,Mg, fosfat, Cl). Ca, S şi Fe sunt aproape excluse din floem.

7.2.2. Căile de parcurs, de la sursă către utilizator şi mecanismul de transport

Transportul fotoasimilatelor implică următoarele **trei etape**:

►*transportul pre- floem*

Se realizează de la cloroplastul celulei asimilatoare, până la cele mai fine vase conducătoare din frunză. Este un transport de distanţe mici, pentru încărcarea floemului.

►*transportul prin floem*

Este un proces de translocare pe distanţe mari.

►*transportul post- floem*

Este un transport pe distanţe mici, realizându-se descărcarea floemului.

Transportul din cloroplastele mezofilului, către vasele liberiene ale frunzelor mature

În cazul tipic al unei plante care transportă **zaharoza**, sunt parcurse următoarele etape:

1) ● triozo-fosfaţii formaţi în cursul fotosintezei trebuie mai întâi să fie transportaţi din cloroplast în citosol, unde are loc conversia la zaharoză;

2) ● deplasarea zaharozei din celulele mezofilului, către celulele vecine celulelor liberiene (cale care implică o distanţă de doar 2 - 3 celule), deci calea de transport pe distanţe mici;
3) ● transportul activ al zaharozei în vasele liberiene (încărcarea floemului – „floem loading") (*fig. 7.7.*).

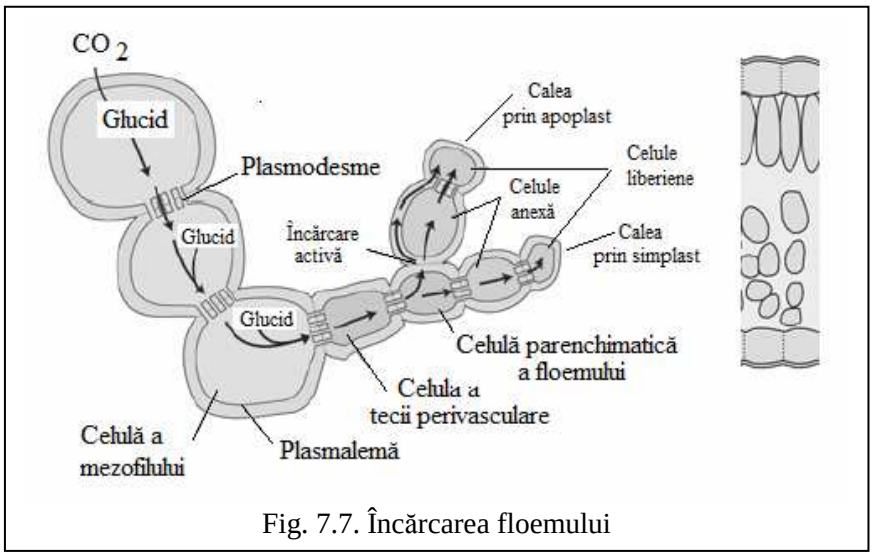


Fig. 7.7. Încărcarea floemului

Ulterior, zaharoza şi alte substanţe sunt supuse unui proces de export (translocare departe de sursă). Acest proces se realizează prin sistemul floem, către utilizator. Este ceea ce reprezintă transportul pe distanţe mari. Deci, încărcarea floemului la sursă şi descărcarea la utilizator se crede că produce forţa conducătoare a translocării. Odată înţeles acest mecanism, va fi posibilă creşterea productivităţii plantelor prin sporirea acumulării fotosintetizatelor în ţesuturile utilizator – edibile (ex. seminţele în cazul cerealelor).

La nivelul frunzelor sursă, concentraţia glucidelor este mai mare în celulele vaselor liberiene şi în celulele anexe, decât în mezofil. Spre exemplu, la *sfecla de zahăr*, presiunea osmotică (P_o) în mezofil este de circa 1,3 MPa, în timp ce în celulele vaselor liberiene şi celulele anexe este de circa 3,0 MPa. Transportul zaharozei înseamnă că se realizează împotriva gradientului de concentraţie. Este deci evident un transport activ al acestei substanţe.

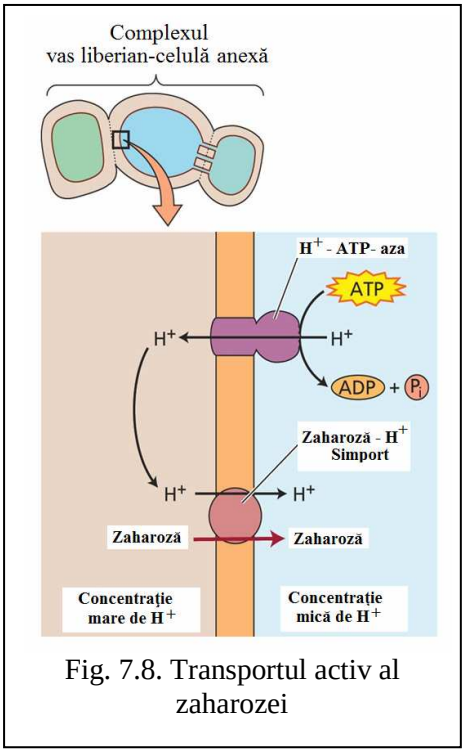


Fig. 7.8. Transportul activ al zaharozei

Rutele de transport pot fi: transportul *prin simplast* (prin plasmodesme), transportul prin *apoplast* (prin peretele celular), sau un transport mixt, în funcţie de specie. În cazul apoplastului, glucidele ar putea fi eliberate activ din apoplast în vasele liberiene şi celulele anexe, prin intermediul unui transportor consumator de energie, localizat în plasmalema acestor celule (*fig.7.8.*) (cazul sfeclei de zahăr). Prin aceasta există şi posibilitatea specificităţii şi selectivităţii pentru molecula transportată.

La speciile *cucurbitaceae* însă, distribuţia plasmodesmelor în diferite tipuri de celule este asemănătoare. De asemenea, presiunea osmotică din celulele mezofilului este similară cu cea din floem. Prin urmare, ruta mezofil, către floem este în totalitate una prin simplast.

În cazul acizilor organici şi a hormonilor, a căror concentraţie în seva elaborată este mai mică comparativ cu cea a hidraţilor de carbon, este posibil ca încărcarea floemului să nu se realizeze în mod activ. Astfel de substanţe pot difuza direct printre fosfolipidele plasmalemei complexului vase liberiene - celule anexe sau prin intermediul transportorilor pasivi situaţi în plasmalema acestor celule. Odată ajunse în vasul liberian, substanţele sunt preluate de curentul de masă.

Mecanismul transportului prin floem

Mecanismul translocării prin floem a constituit subiect de cercetare începând din anii 1930. Au fost emise o serie de ipoteze în acest sens.

Ipoteza difuziunii precizează că circulaţia substanţelor organice care întră în compoziţia sevei elaborate se realizează independent de circulaţia apei. Baza acestui transport o reprezintă *gradientul de concentraţie dintre* zona de asimilaţie (*sursă*) şi zona de consum (*utilizator*). Această ipoteză nu poate explica însă viteza mărită de circulaţie a sevei elaborate, comparativ cu viteza specifică în cazul unui proces de difuziune.

Kursanov (1949) a propus ipoteza metabolică, conform căreia transportul sevei elaborate se bazează pe *proprietatea citoplasmei din zona plăcilor ciuruite*, de a contribui la procesul de translocare. Zona respectivă *funcţionează ca o pompă metabolică*.

O altă ipoteză este cea a curentului electroosmotic (Fensom, 1957; Spanner, 1958). Se presupune că *baza* transportului electroosmotic *o constituie prezenţa proteinelor P la nivelul porilor plăcilor ciuruite*, încărcaţi electric. Nici această ipoteză nu poate explica transportul anionilor. De asemenea, proteinele P nu sunt prezente în vasele liberiene ale tuturor speciilor de plante superioare.

În general însă, se menţionează că transportul ar putea fi de două tipuri, pasiv şi activ, dar că în fiecare caz este necesară energie. În situaţia transportului pasiv, energia este necesară doar pentru menţinerea în stare funcţională a vaselor liberiene. În cazul celui activ, energia este necesară pentru translocarea în vasele liberiene.

Dintre toate ipotezele emise în acest sens, astăzi, **cel mai mult acceptată este *ipoteza curentului de masă sub presiune, generat osmotic***, descrisă în prima parte a sec. XX de către Ernst Münch (1926, 1927, 1930) candidat principal al mecanismului de transport a metaboliţilor pe distanţe mari (Willenbrink, 2002; Kargol şi al, 2003) (*fig. 7.9.*).

Se consideră că transportul soluţiei prin vasele liberiene este coordonat de un gradient de presiune generat osmotic, între ţesuturile sursă şi ţesuturile utilizator. Acest gradient este o consecinţă a încărcării floemului la sursă şi a descărcării sale la utilizator. Încărcarea activă la sursă generează o presiune osmotică mărită în vasele liberiene, ceea ce determină endosmoza apei şi creşterea presiunii de turgescenţă. La utilizator, deci la capătul căii de translocare are loc descărcarea floemului şi scade presiunea osmotică în floem. Presiunea osmotică în floem fiind mai mică comparativ cu cea din xilem, se permite efluxul apei şi în consecinţă scade presiunea de turgescenţă din vasele liberiene, la nivelul zonei utilizator. Modelul implică deci o circulaţie a apei prin plante, între căile xilem şi floem. Deci, apa se deplasează odată cu substanţele, pe baza curentului de masă. Deplasarea apei se datorează gradientului de presiune şi nu gradientului potenţialului apei.

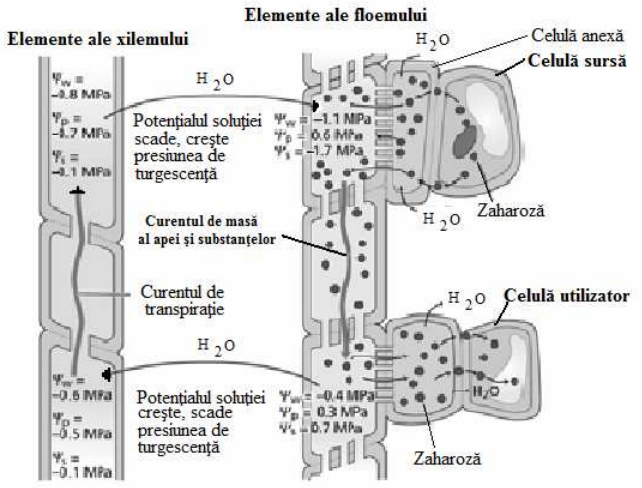


Fig. 7.9. Model al curentului de masă sub presiune generat osmotic

De altfel, Kargol şi Kargol (1996) au propus un sistem integrat al translocării apei în plante pe distanţe mari, sistem împărţit în patru stadii interconectate.

În primul stadiu apa traversează radial rădăcina, în drumul său din sol către xilem.

În al doilea stadiu are loc transportul apei de-a lungul xilemului, de la rădăcină către frunze, deci în mod obişnuit ascendent.

În al treilea stadiu apa traversează ţesuturile frunzei, mai ales prin simplast, iar în cea mai mare parte odată ajunsă la nivelul pereţilor celulari ai celulelor mezofilului şi la nivelul cuticulei, se pierde în atmosferă în urma procesului de vaporizare şi de realizare a transpiraţiei. O cantitate relativ mică de apă rămasă la nivel de apoplast este preluată de către celulele frunzelor. Din această apă şi din fotoasimilate produse în celulele fotosintetizante se constituie soluţia care se deplasează către vasele liberiene şi deci va avea loc transportul apei prin floem. Prin urmare, vorbim despre *al patrulea stadiu* de transport al apei prin floem, pe distanţe mari, către locurile de utilizare.

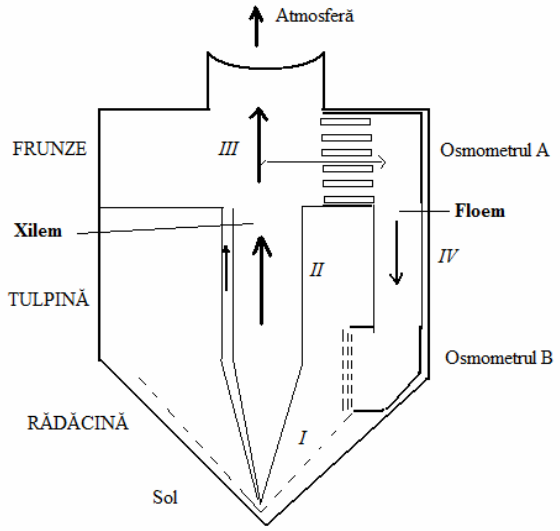


Fig. 7.10. Schema sistemului integrat de translocare a apei in plante (modificat după Kargol şi al., 2003)

Kargol şi al. (2003) aduc unele modificări ale sistemului integrat propus de Kargol şi al. (2001) în sensul de a-l face mai apropiat de realitatea biologică (*fig. 7.10.*). Principalul element al sistemului este modelul lui Münch, care din punct de vedere fizic constă din două osmometre (A şi B) conectate printr-un tub, care imită componentele floemului plantei. Analizând translocarea apei în plante pe distanţe mari, autorii au concluzionat că se poate vorbi despre similarităţi cu circulaţia sângelui în organismul animal.

Mai mult, s-a pus problema localizării inimii în plantă şi formulării mecanismului de operare a acesteia. Studiile efectuate au admis că „inima” la plante este situată în frunze şi funcţionează pe principul osmotic. Inima pompează apa din apoplastul frunzelor, în vasele liberiene, iar cea de-a doua presiune corespunzătoare contracţiei inimii este cauza transportului apei şi asimilatelor prin floem (transportul sub forma curentului de masă).

Pe de altă parte Thompson (2006) a propus un *model* (*fig.7.11.*) având în vedere faptul că structura floemului reflectă o funcţie dublă. Una este cea de transport a fotoasimilatelor prin plante, şi o alta o reprezintă schimbul de substanţe între floem şi ţesuturile din jur. Floemul este alcătuit din complexe în serie (celule liberiene, celule anexe) (SECC) şi fiecare complex SECC se află într-un schimb constant cu ţesutul din jur. Un astfel de concept integrator al funcţionării pe distanţe mari şi mici ar necesita o abandonare a controlului “curgerii”, ca urmare a diferenţelor de turgescenţă sursă-utilizator.

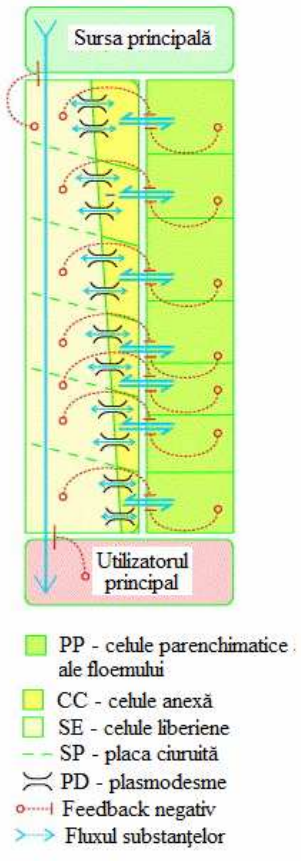


Fig. 7.11. Model al fluxului substanţelor prin floem

Translocarea substanţelor din vasele liberiene, în celulele ţesuturilor utilizatoare (descărcarea floemului)

Translocarea substanţelor în organele utilizatore (de exemplu: rădăcini în formare, tuberculi, structuri reproductive etc.) este denumită **export**. Evenimentele importului sunt la modul simplu inversul etapelor care au avut loc la nivelul sursei, in cazul încărcării floemului.

Procesul presupune trei etape:

► descărcarea vaselor liberiene, respectiv glucidele transportate părăsesc vasele liberiene ale țesutului utilizator;

► transportul pe distanţe mici, respectiv după descărcarea floemului glucidele sunt transportate către celulele utilizator, pe calea mecanismului de transport pe distanţe mici;

► depozitarea sau metabolizarea glucidelor în celulele utilizator.

Depinde de utilizator dacă intervine un transport prin simplast sau unul prin apoplast:

1) la utilizatorii vegetativi (rădăcini, frunze tinere) importul şi transportul în celulele primitoare este de obicei realizat prin simplast;

2) la utilizatorii care depozitează substanţe organice, precum rădăcinile sfeclei de zahăr, tulpinile trestiei de zahăr, are loc importul în apoplast a zaharozei, înainte de a intra în simplastul utilizatorului;

3) la organe reproductive (seminţe în dezvoltare) este necesar un transport prin apoplast, deoarece nu sunt conexiuni prin simplast între ţesuturile maternale şi ţesuturile embrionului.

Pentru realizarea importului, prezintă o deosebită importanţă activitatea metabolică de la nivelul ţesuturilor utilizatoare. Energia metabolică produsă este necesară în mod direct pentru realizarea reacţiilor de biosinteză şi indirect pentru preluarea nutrienţilor.

7.3. Factorii care influenţează translocarea prin floem

Procesul de translocare este influenţat de numeroşi factori externi şi interni, precum: lumina, temperatura, oxigenul, umiditatea, elementele minerale, hormonii, inhibitorii etc.

Lumina influenţează procesul de translocare prin intensitatea sa, în sensul că o lumină intensă sporeşte translocarea, mai ales către rădăcină. Intensificarea fotosintezei în condiţiile radiaţiilor luminoase roşii şi albastre accentuează şi rata de translocare. Lumina are mai degrabă un rol indirect, în ceea ce priveşte rata de transport prin floem. Desigur, în cazul unor condiţii optime în ceea ce priveşte factorul lumină, se va produce o cantitate mai mare de fotoasimilate. În consecinţă, creşte concentraţia substanţelor organice la zona sursă, ceea ce necesită un export imediat şi implicit o translocare mai rapidă către utilizator.

Temperatura influenţează procesele de încărcare şi descărcare a floemului, în sensul că la temperaturi mici se reduce translocarea. Valorile optime sunt situate între 25-35^{0}C. Rata de transport creşte odată cu creşterea temperaturii, până la valori situate în jur de 35^{0}C, urmând să scadă peste aceste limite. Desigur, stresul termic (în cazul ambelor extreme) induce un proces de inhibare a translocării, prin blocarea plăcilor ciuruite.

Stresul hipohidric afectează în special transportul pe distanţe mici, în vederea încărcării floemului şi într-o măsură mai mică transportul prin floem.

Dintre **elementele minerale**, s-a determinat că borul favorizează procesul de translocare a zaharozei.

În privinţa **hormonilor**: acidul indolil acetic şi acidul giberelic sporesc rata translocării, iar citochininele influenţează translocarea substanţelor cu azot.

Inhibitorii metabolici precum azida; 2,4-dinitrofenol; cianid reduc rata de translocare, prin efectele asupra metabolismului celulelor implicate în procesele de încărcare şi descărcare a floemului.

Modalităţi de sporire a recoltei edibile, prin modificarea alocării şi partiţiei asimilatelor

Creșterea și dezvoltarea plantelor se realizează dependent de controlul partiției hidraților de carbon, iar mecanismul de reglare a alocării carbonului fixat, către diferite țesuturi nu este pe deplin înțeles la nivel molecular (Slewinski și Braun, 2010).

Trebuie făcută distincţia între *procesul de alocare* şi *procesul de partiţie*.

Alocarea presupune reglarea distribuţiei glucidelor, către diferite căi metabolice, respectiv către diferite forme de substanţe.

Partiţia presupune distribuţia diferenţiată a glucidelor în plantă, către diferite ţesuturi.

Pentru sporirea recoltei edibile, faţă de recolta biologică, una dintre cele mai recente modalităţi este selecţia şi extinderea în cultură a unor soiuri caracterizate prin perfecţionarea transportului asimilatelor către părţile edibile ale plantelor. De asemenea, scopul cercetărilor în domeniu este şi acela de a aplica acele măsuri tehnice în cadrul tehnologiilor de cultivare a plantelor, care reduc la minimum pierderile de fotoasimilate.

Se impune totodată existenţa unei coordonări a vitezei sintezei amidonului în cloroplast, cu sinteza zaharozei în citosol. Cercetările au demonstrat însă faptul că plantele de zi scurtă permit o rată mai mare de sinteză a amidonului, în timp ce plantele de zi lungă prezintă o rată mai redusă de acumulare a amidonului. De asemenea, la plantele de zi scurtă, viteza de translocare a asimilatelor este mai mică. Existenţa unei competiţii pentru asimilate face ca reducerea ţesutului vegetativ (frunze tinere) să aibă ca rezultat o dirijare sporită a asimilatelor către ţesuturile reproductive (ex. seminţe), care de altfel sunt foarte buni acumulatori de asimilate.

7.4. Depozitarea substanţelor organice de rezervă

<u>În privinţa depozitării substanţelor</u> în diferite organe de depozitare, sunt de remarcat anumite caracteristici în funcţie de specie şi de organ. Organele de depozitare acumulând glucide la concentraţii mari, este necesar un transport membranal activ, cu un consum de energie pentru asigurarea transportului, împotriva gradientului de concentraţie.

În interiorul unei celule, transportorii zaharozei sunt: zaharoză /H^+ simport localizată în plastid, tonoplast şi pasmalemă. Transportul independent de consumul de energie mediat prin difuziune facilitată s-a determinat la nivel de tonoplast, în celulele de depozitare şi funcţionează ca un eflux în plasmalema tegumentului seminţelor de leguminoase şi vâful rădăcinii. Există de asemenea evidenţiat biochimic mecanismul de transport antiport cu protoni, la nivel de plasmalemă şi tonoplast (Kühn şi Grof, 2010).

În cazul tuberculilor de *Solanum tuberosum*, transportul din vasele liberiene în celulele parenchimului se realizează prin simplast, deci prin plasmodesme. Existenţa acestei căi se datorează prezenţei unui număr mare de plasmodesme, a numărului mic de transportori proteici de la nivelul plasmalemei, precum şi faptului că floemul este înconjurat de endoderm (cu prezenţa îngroşărilor lui Caspary),ceea ce determină blocarea transportului prin apoplast. Zaharoza ajunsă în celulele parenchimului de depozitare este hidrolizată la glucoză şi fructoză, prin intermediul enzimei invertaza. Monoglucidele sunt hidrolizate la triozofosfaţi, formă sub care sunt transportaţi în amiloplaste, prin intermediul unui transportor proteic. Ca urmare, la nivelul celulelor parenchimului de depozitare scade concentraţia glucidelor reducătoare şi prin aceasta se menţine gradientul de difuziune.

În cazul strugurilor, în faza de creştere rapidă (15 zile de la anteză), între vasele liberiene, celulele anexă și parenchimul liberian se găsește un număr mare de plasmodesme. Aceasta indică realizarea unui transport prin simplast (Xia și Zhang, 2000). Zaharoza ajunsă pe această cale în

celulele mezocarpului este transportată activ prin tonoplast şi se acumulează în vacuolă. Se determină astfel menţinerea gradientului de difuziune, dintre vasele liberiene şi celulele parenchimului de depozitare. După 45 de zile de la anteză, s-a constatat existenţa unui număr redus de plasmodesme între vasele liberiene, celulele anexă şi parenchimul liberian. Aceasta evidenţiază scăderea ritmului de transport al substanţelor prin simplast.

De altfel, în cadrul utilizatorului, zaharoza poate fi metabolizată la nivel de citosol sau în vacuolă, înainte de a fi depozitată, ori de a intra în căi metabolice asociate cu creşterea ţesutului. Dacă are loc o descărcare apoplasmică a floemului, există şi posibilitatea metabolizării parţiale în apoplast sau dacă nu, poate traversa apoplastul fără a suferi modificări. La nivel de apoplast intervine invertaza, care hidrolizează la glucoză şi fructoză şi apoi glucoza şi/sau fructoza pot intra în celulele utilizator.

În cazul plantelor oleaginoase, la care sinteza lipidelor are loc în seminţe, substratul îl reprezintă tot zaharoza. Prin biodegradarea zaharozei şi utilizarea produşilor din ciclul glicolitic, precum şi a acetil CoA în procesul de sinteză a acizilor graşi, se menţine fluxul de difuziune dintre vasele liberiene şi celulele din cotiledoane.

Cercetările efectuate în cazul seminţelor în curs de dezvoltare, precum soia, au condus la concluzia că atât intrarea zaharozei în apoplast cât şi preluarea în embrion sunt mediate de transportori şi sunt deci procese active.

La cereale, cum este cazul la grâu, preluarea în embrion este activă. Efluxul zaharozei din ţesutul maternal este pasivă, deoarece treapta următoare activă menţine concentraţia zaharozei în apoplast la valori scăzute. În cazul porumbului, invertaza situată la nivelul peretelui celular (ce determină hidroliza zaharozei la glucoză şi fructoză) contribuie la menţinerea unei concentraţii scăzute a zaharozei în apoplast. În general, preluarea glucidelor din apoplast pare a se realiza prin intermediul unui transport de tip simport: glucid-H^+.

Întrebări

1. Care sunt principalele particularităţi structurale şi funcţionale ale floemului ?
2. Explicaţi direcţia de transport a substanţelor prin floem.
3. Care sunt tipurile şi formele de substanţe translocate prin floem ?
4. Explicaţi mecanismul de transport a substanţelor prin floem.
5. Particularităţi cu privire la depozitarea substanţelor organice de rezervă.

Bibliografie selectivă

Ade-Ademilua, O.E. şi Botha, C.E.J., 2008. The level of wall ingrowths protrusion in transfer cells is a function of the sink/source state of the leaf. Am. J. Plant Physiol., 3: 67-72.

Fensom, D.S. 1957. The bioelectric potentials of plants and their functional significance. I. An electrokinetic theory of transport. Canadian Journal of Botany, Vol. 35: 573- 582.

Goldsmith, M.N.H. 1977. The polar transport of auxin. Annu. Rev. Plant Physiol., Vol. 28: 439-478.

Kargol, M. and Kargol, A. 1996. A synthetic approach to biophysical theories of water translocation in plants occuring over long distances. Current Topics in Biophysics, Vol. 20: 149-153.

Kargol, A. 1996. An integrated approach to water transport in a plant over long distances. J. Biol. Phys., Vol. 23: 157-173.

Kargol, A. 2001. A mechaniscistic model of transport processes in porous membrane generated by osmotic and hydraulic pressure. J. Memb. Sci., Vol. 191: 61-69.

Kargol, M., Suchanek, G., Przestalski, M. şi Kargol, A. 2003. Modification of integrated system of long distance transport of water in plants. Where the plant has its heart? Current Topics in Biophysics, Vol. 27: 3-9.

Kennedy, J.S. şi Mittler, T.E. 1953. A method of obtaining phloem sap via the mouth- part of aphids. Nature. Vol 171: 528- 529.

Kühn, C. şi Grof, C.P.L. 2010. Sucrose transporters of higher plants. Current Opinion in Plant Biology, Vol. 13: 288-298.

Slewinski, T.L. şi Braun, D.M. 2010. Current perspectives on the regulation of whole plant carbohydrate partitioning. Plant Science, Vol.178: 341-349.

Thompson, M.V. 2006. Phloem: the long and the short of it. Trends in Plant science, Vol. 11: 26-32.

CAPITOLUL 8

BIODEGRADAREA SUBSTANŢELOR ORGANICE DE REZERVĂ

Cuvinte cheie: *substanţe organice de rezervă, respiraţie, biodegradare enzimatică, glicoliză, ciclul Krebs, transportul electronilor şi fosforilarea oxidativă, ciclul glioxilic, ciclul pentozo fosfat, ciclul respirator alternativ, biodegradarea anaerobă, factori interni şi externi*

Obiective

● cunoaşterea şi înţelegerea procesului de respiraţie la plante;
● cunoaşterea etapelor specifice de biodegradare a diferitelor tipuri de substanţe organice de rezervă;
● cunoaşterea şi înţelegerea procesului de biodegradare a amidonului, principalul poliglucid de rezervă la celula vegetală;
● cunoaşterea şi înţelegerea mecanismului respiraţiei mitocondriale;
● cunoaşterea şi înţelegerea ciclului respirator alternativ;
● cunoaşterea căilor de biodegradare anaerobă a substanţelor organice de rezervă;
● cunoaşterea factorilor interni şi externi care influenţează respiraţia; importanţa practică a acestor cunoştinţe;

REZUMAT

Respiraţia reprezintă un proces fiziologic complex, caracteristic pentru toate fiinţele vii. Procesul constă în oxidarea controlată a substanţelor organice de rezervă (glucide, proteine, lipide, acizi organici), cu producere de energie, CO_2 şi H_2O, ca produşi finali. Indiferent de natura substratului, în general se pot deosebi trei etape principale ale biodegradării. În cazul amidonului, care constituie principalul glucid de rezervă, cele trei etape sunt: - biodegradarea enzimatică, până la glucoză; - glicoliza, sau scindarea glucozei la două molecule de acid piruvic; - biodegradarea acidului piruvic prin respiraţie aerobă mitocondrială sau pe cale anaerobă, fermentativă. Prima etapă se realizează în amiloplaste, iar principalele enzime implicate sunt: α-amilaza, β- amilaza şi amidon fosforilaza. Nu se produce energie metabolică. Glicoliza se desfăşoară în citosol şi rezultă două molecule de acid piruvic, precum şi o mică cantitate de energie metabolică. La nivelul mitocondriei se desfăşoară biodegradarea aerobă a acidului piruvic, în prezenţa oxigenului molecular. Procesul constă în desfăşurarea ciclului Krebs, a transportului electronilor, precum şi a fosforilării oxidative. Rezultă o cantitate mare de energie metabolică, stocată sub formă de ATP. În total, în urma biodegradării unei molecule de glucoză rezultă 38 moli de ATP. În cadrul celulei vegetale, lanţul de transport al electronilor este puternic ramificat. Prin urmare, sistemul fosforilării oxidative dispune de câteva căi alternative de transport a electronilor, precum: - calea NAD(P)H dehidrogenazelor de tipul II; - calea oxidazei alternative. Ambele căi sunt specifice plantelor. De asemenea, există un transportor alternativ de protoni, aşa numita proteină necuplată (UCP) care se găseşte şi la celula animală. La unele organe vegetative bogate în glucide de rezervă (tuberculi de cartof, celule vii situate în profunzime la fructe, în cazul terenurilor inundate), acidul piruvic rezultat în glicoliză este metabolizat pe cale fermentativă, cel mai adesea pe cale alcoolică sau pe cale lactică. Procesul de respiraţie este influenţat de numeroşi factori interni şi externi, iar cunoaşterea acestora prezintă o deosebită importanţă practică.

8.1. Respiraţia – Definiţie, Ecuaţie generală, Importanţă

Respiraţia *reprezintă procesul fiziologic caracteristic pentru toate fiinţele vii. Procesul constă în oxidarea controlată a substanţelor organice de rezervă* (glucide, proteine, lipide, acizi organici), *cu producere de energie, CO_2 şi H_2O, ca produşi finali.* În cursul procesului rezultă şi produşi intermediari.

Din punct de vedere al proceselor chimice care se desfăşoară, în general acestea constau în scindări hidrolitice, oxidări, reduceri, decarboxilări, fosforilări, defosforilări, chiar şi sinteze. Produşii rezultaţi sunt mai săraci în energie, decât cei iniţiali. Dar, procesul de biodegradare nu serveşte doar pentru producerea de energie. Adeseori, prin intermediul unor căi metabolice se formează noi compuşi în plante, în urma unor reacţii de sinteză.

Dacă substratul respirator este glucoza şi biodegradarea este totală, **ecuaţia generală** poate fi redată astfel:

$$C_6H_{12}O_6 + 6\ O_2 \rightarrow E\ (2870\ kJ) + 6CO_2 + 6\ H_2O$$

Din punct de vedere biologic, respiraţia este un proces de oxidare. Respiraţia propriu-zisă (adică oxidarea biologică a substanţelor organice) trebuie deosebită de oxidarea pe care o efectuează spre exemplu bacteriile autotrofe chimiosintetizante, în scopul obţinerii de energie, pentru asimilarea autotrofă a carbonului. Ambele procese sunt în esenţă oxidări biologice, dar, finalitatea fiziologică este diferită. **Respiraţia** *se desfăşoară în mod continuu, în toate celulele active* şi constituie mai mult decât un simplu schimb de gaze (absorbţie de O_2 şi eliberare de CO_2). Este un proces complex de oxido-reducere, respectiv de oxidare a compuşilor organici la CO_2 şi de reducere a oxigenului absorbit, în prezenţa hidrogenului, cu formare de H_2O. Respiraţia este un proces de *ardere biologică*, diferit de arderea fizică (*tabelul 8.1.*).

În 1872, Louis Pasteur a descoperit "viaţa fără oxigen liber" şi folosea pentru desemnarea acestui proces expresia **fermentaţie**. Astăzi, termenul de fermentaţie se aplică mai mult pentru desemnarea proceselor de biodegradare diferite de respiraţia propriu-zisă, dirijate tehnologic şi a căror denumire specială este în funcţie de produsul final (ex. fermentaţie alcoolică) sau compusul iniţial (ex. fermentaţia celulolitică).

Tabelul 8.1.

Unele diferenţe între respiraţie şi arderea fizică

Nr. crt.	Respiraţia	Arderea
1	Este un proces fiziologic	Este un proces fizic
2	Oxigenul se combină în mod indirect cu substratul, iar energia se produce treptat	Oxigenul se combină în mod direct cu substratul şi simultan se produce energie
3	Cea mai mare parte a energiei este încorporată în cadrul moleculelor de ATP (o mică parte este eliberată sub formă de căldură)	Întreaga cantitate de energie este eliberată sub formă de căldură
4	Se realizează la temperatura camerei	Se realizează la temperaturi foarte mari (200^0C- 300^0C)

Importanța biologică a respiraţiei derivă din ecuația generală:

▪ *energia* produsă în cursul respirației este utilizată în desfășurarea a diferite procese metabolice: re sinteza compușilor implicați în desfășurarea proceselor metabolice; menținerea gradientului ionilor și metaboliților; procese implicate în adaptarea la stres; cea mai mare cantitate de energie este utilizată în turnoverul proteinelor;
▪ respiraţia totală (ca sumă a *respiraţiei de creştere* - respiraţie de sinteză sau respiraţie constructivă şi *respiraţiei de întreţinere* - respiraţie bazală) este esenţială pentru creşterea a noi ţesuturi şi menţinerea funcţionalităţii ţesuturilor existente;
▪ *dioxidul de carbon eliberat* are rol important în balanța carbonului celulelor individuale, a plantelor întregi și ecosistemelor, precum și în ciclul global al carbonului în natură (Bruhn, 2002);
▪ *produșii intermediari* rezultați în cursul respirației (acetil CoA, succinil CoA etc.) sunt utilizați în diferite procese anabolice (acetil CoA este folosită în sinteza aminoacizilor și acizilor grași; succinil CoA este folosită pentru sinteza clorofilei) etc.

8.2. Etapele procesului de biodegradare a substanţelor organice de rezervă

Substanţele organice de rezervă sunt reprezentate de glucide, lipide şi proteine.

În cea mai mare parte a cazurilor, transformarea macromoleculelor glucidice ca şi a altor substanţe organice de rezervă conduce la formarea hexozelor (în mod esenţial glucoză) sau pentozelor. Indiferent de natura substratului, se pot deosebi **trei etape principale ale biodegradării**.

Dacă facem referire la amidon, care reprezintă principalul glucid de rezervă, cele trei etape sunt:

► *biodegradarea enzimatică până la glucoză;*

►*glicoliza, sau scindarea glucozei la două molecule de acid piruvic;*

►*biodegradarea acidului piruvic prin respiraţie aerobă mitocondrială sau pe cale anaerobă, fermentativă.*

În cele ce urmează, vor fi prezentate succint unele aspecte privind biodegradarea a diferite tipuri de substanţe de rezervă şi se va insista asupra biodegradării amidonului.

8.2.1. Etapa I-a - Biodegradarea enzimatică a substanţelor organice de rezervă

Biodegradarea enzimatică a substanţelor organice de rezervă se realizează la nivelul organitelor specifice de depozitare a acestora şi nu rezultă energie metabolică.

<u>În privinţa glucidelor</u>, principalul glucid de rezervă la celula vegetală a plantelor superioare îl reprezintă amidonul. Acesta este localizat la nivel celular pe de o parte în cloroplast (ca formă tranzitorie de depozitare a fotoasimilatelor), dar mai ales în amiloplaste, ca substanţă organică de rezervă. De asemenea, sunt depozitate ca substanţe organice de rezervă şi alte glucide nereducătoare, precum fructanii, zaharoza, dar şi glucide simple.

Pentru **biodegradarea enzimatică a amidonului**, *principalele enzime implicate* sunt: *α-amilaza, β- amilaza şi amidon fosforilaza*. Dintre aceste enzime, se pare că numai α-amilaza poate ataca granulele intacte de amidon, aşa încât celelalte două categorii vor acţiona asupra produşilor α-amilazelor. Amilazele de tip α-amilaza atacă legăturile 1,4 atât în cadrul amilozei, cât şi al amilopectinei, inducând eliberarea de produşi lungi. Nu poate ataca legăturile 1,6 ale amilopectinelor, iar biodegradarea amilopectinei se rezumă la formarea unor dextrine. Amilazele de tip β-amilază hidrolizează amidonul la β-maltoză (diglucid cu proprietăţi reducătoare). Amilazele sunt enzime hidrolitice, cu acţiune ireversibilă. Amidon fosforilazele biodegradează amidonul începând de la capetele nereducătoare, folosind în acest scop o grupare fosfat şi nu o moleculă de apă. Ele nu sunt hidrolaze, ci enzime fosforolitice. De asemenea, reacţia catalizată este reversibilă *in vitro*.

Legăturile 1,6 din cadrul amilopectinei, precum şi alte legături care nu au fost rupte de enzimele prezentate anterior, pot fi atacate de anumite *enzime de deramificare.* La plante, au fost descrise trei tipuri principale de astfel de enzime: o pululază, o izoamilază şi o limit dextrinază (Manners, 1985). De obicei, maltoza se acumulează rareori în cursul hidrolizei amidonului, deoarece ea este hidrolizată la două molecule de glucoză, sub acţiunea enzimei maltaza.

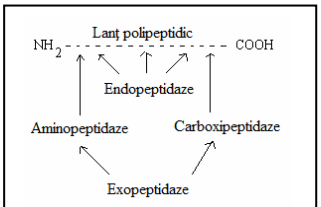


Fig.8.1. Acţiunea peptidazelor

Fructanii sunt hidrolizaţi prin intermediul enzimelor *β-fructofuranozidaze*. **Zaharoza** este biodegradată printr-o reacţie hidrolitică ireversibilă, sub acţiunea *invertazelor*. O altă enzimă care concură la hidroliza zaharozei este zaharozo-sintaza, iar reacţia este reversibilă. **<u>Proteinele</u>** sunt depozitate în proteinozomi. Pot fi biodegradate sub acţiunea proteazelor, care scindează molecula proteică în fragmente polipeptidice. Peptidazele de tip *endopeptidaze şi exopeptidaze* hidrolizează polipeptidele şi le transformă în aminoacizi. Aminopeptidazele îşi încep acţiunea prin extremităţile NH_2 şi carboxipeptidazele încep atacul prin extremităţile COOH (*fig. 8.1.*).

Lipidele (trigliceridele) sunt depozitate în sferozomi şi sub acţiunea lipazelor sau esterazelor se realizează biodegradarea la glicerol şi acizi graşi.

8.2.2. Etapa a II-a de biodegradare a substanţelor organice de rezervă

Procesele care au loc prezintă particularităţi în funcţie de substrat.

♦ *Glucoza* este biodegradată prin glicoliză.

♦ *Aminoacizii* sunt transportaţi din proteinozomi în citoplasmă, unde are loc dezaminarea. Se formează cetoacizi şi se eliberează NH_3.

♦ *Produşii biodegradării enzimatice a lipidelor urmează căi specifice*:

a) *glicerolul* poate fi transformat în aldehidă glicerică, care poate fi folosită ulterior în ciclul glicolitic (deci biodegradare) sau în fotosinteză pentru producerea hexozelor;

b) *acizii graşi* sunt transportaţi din sferozomi până în glioxizomi, unde sunt biodegradaţi prin *β-oxidare* sau ciclul Linen (*fig. 8.2.*).

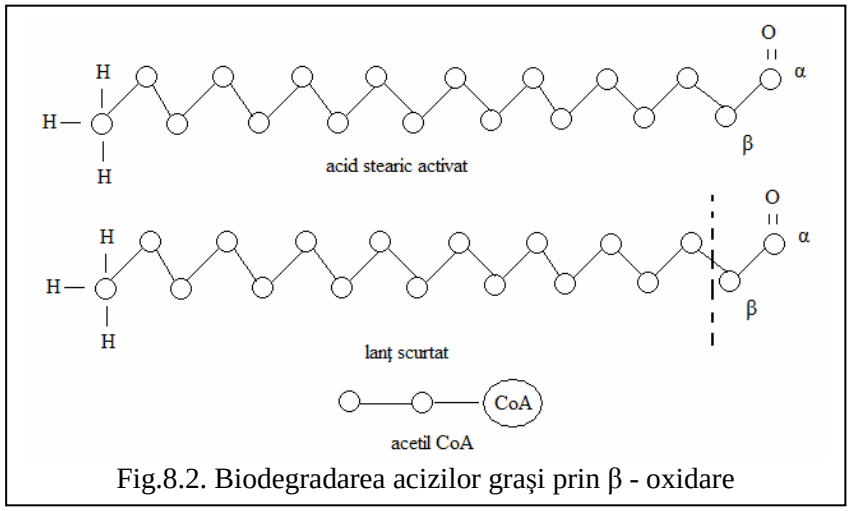


Fig.8.2. Biodegradarea acizilor graşi prin β - oxidare

De fiecare dată, la scurtarea lanţului rezultă câte o moleculă de acetil CoA. Spre exemplu, pentru un acid gras cu 18 C, ciclul conduce la formarea a 9 moli de acetil CoA. La producerea fiecărui mol de acetil CoA se formează şi 5 moli de ATP. Formarea celor 5 moli de ATP se explică prin transferul electronilor la FAD^+ şi NAD^+ ; formarea $FADH_2$, precum şi $NADH^+ + H^+$ şi ulterior oxidarea acestora la nivelul mitocondriei. Prin urmare, rezultă un total de 45 moli ATP, corespunzător a 1350 kJ.

Acetil CoA poate fi utilizată în continuare în două moduri: intră la nivelul mitocondriei în desfăşurarea ciclului Krebs sau este metabolizată direct în glioxizomi, în **ciclul glioxilic** (*fig. 8.3.*). Deci, în cadrul ciclului Krebs, acetil CoA este oxidată la 2 molecule de CO_2 generându-se ATP, nefiind o sinteză netă, dacă ciclul sfârşeşte cu acid oxalacetic, exact acelaşi compus cu care s-a început. Pentru a exista precursori biosintetici, cele două reacţii de producere a CO_2 în cadrul ciclului acidului citric trebuie evitate. Se poate realiza aceasta prin intermediul ciclului acidului glioxilic, care preia compuşii cu doi carboni şi-i transformă în compuşi cu 4 carboni.

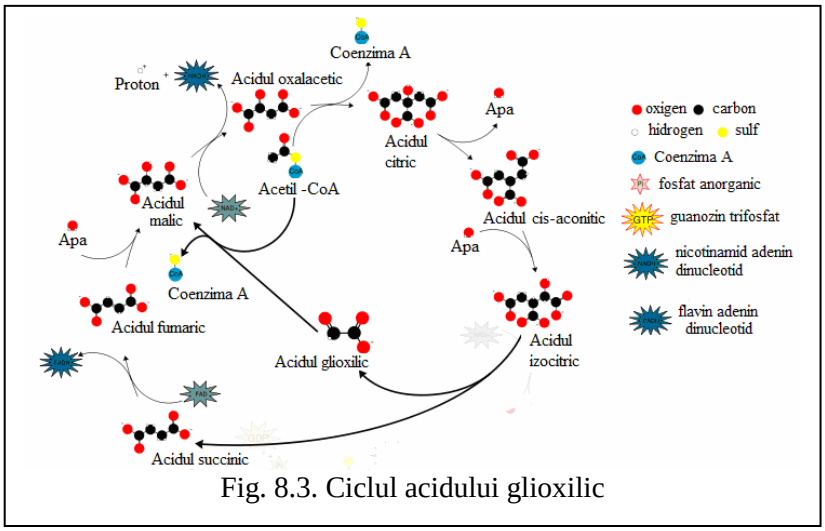


Fig. 8.3. Ciclul acidului glioxilic

Pe parcursul creşterii plantelor sunt necesare cantităţi mari de polizaharide. Spre exemplu, *în cursul germinării semințelor, ciclul glioxilic permite sinteza glucozei din lipide*. Menţionăm faptul că prin acest ciclu se evită etapele prin care se pierde dioxid de carbon în ciclul Krebs, însă etapele: acetil CoA → acid citric → acid izocitric sunt identice. În continuare, intervin izocitrat liaza, cu scindarea acidului izocitric la acid succinic şi acid glioxilic, de unde derivă şi numele ciclului. Are loc apoi o condensare a acidului glioxilic cu acetil CoA, sub acţiunea malat sintazei, rezultând acidul malic. Acidul malic, precum şi acidul oxalacetic pot fi transformaţi în acid fosfoenol piruvic, care reprezintă substrat al fosfoenolpiruvat carboxikinazei, o primă enzimă a gluconeogenezei.

8.2.2.1. Biodegradarea glucozei pe calea glicolizei – prima fază a respiraţiei

Glucoza rezultată din biodegradarea amidonului sau glucoza depozitată în vacuolă este transportată în citosol, unde se desfășoară ***glicoliza***. Glicoliza sau ciclul EMP (EMP – Embden, Meyerhof, Parnas) este cea mai veche şi comună cale cunoscută, privitoare la degradarea hexozelor. Biodegradarea glucozei, cu formarea a două molecule de acid piruvic (compus cu 3 atomi de carbon), ca formă tranzitorie, reprezintă **prima fază a respirației.** Termenul de glicoliză a fost introdus în 1909 şi semnifica liza glucidelor, respectiv degradarea glucozei la alcool etilic. Reacţiile individuale ale procesului au fost descoperite de către cercetători germani interesaţi de producerea alcoolului prin intermediul drojdiilor, precum şi de către alţi cercetători preocupaţi de degradarea glicogenului la acid piruvic, în celulele musculare.

Stadiile glicolizei

Glicoliza poate fi împărțită în ***două stadii*****:**

► **A.** S*tadiul pregătitor*, care necesită energie
► **B.** S*tadiul oxidativ*, care eliberează energie

Stadiul pregătitor implică fosforilarea, izomerizarea și splitarea glucozei. La început are loc *fosforilarea* glucozei, prin intermediul unei molecule de ATP și rezultă glucoza 6- fosfat. Urmează *izomerizarea* glucozei 6-fosfat, la fructoza 6-fosfat. Are loc apoi o a doua fosforilare, respectiv fructoza 6-fosfat este transformată în fructoza 1,6 difosfat, prin utilizarea unei molecule de ATP. În continuare, fructoza 1,6 difosfat este splitată la 2 molecule, cu câte 3 atomi de carbon: aldehida 3-fosfoglicerică și dihidroxiaceton fosfat, substanțe interconvertibile.

Stadiul oxidativ implică *fosforilarea*, *oxidarea* (prin dehidrogenare), *izomerizarea* și *deshidratarea*.

▪ Aldehida 3-fosfoglicerică este fosforilată prin intermediul fosfatului anorganic rezultând aldehida 1,3-difosfoglicerică. Aceasta este supusă unei dehidrogenări, prin intermediul coenzimei NAD^+, producându-se acidul 1,3-difosfogliceric.

▪ Fosforilarea la nivel de substrat constă în acceptarea de către ADP a unei grupări fosfat de la acidul 1,3-difosfogliceric, proces în urma căruia rezultă o moleculă de ATP și acidul 3-fosfogliceric.

▪ Acidul 3-fosfogliceric este izomerizat la acid 2-fosfogliceric.

▪ Acidul 2-fosfogliceric este deshidratat, cu producerea acidului fosfoenol piruvic.

▪A doua fosforilare la nivel de substrat constă în transferul grupării fosfat de la acidul fosfoenol piruvic, la ADP, cu formarea ATP și a acidului piruvic. Astfel, se încheie glicoliza (*fig. 8.4.*).

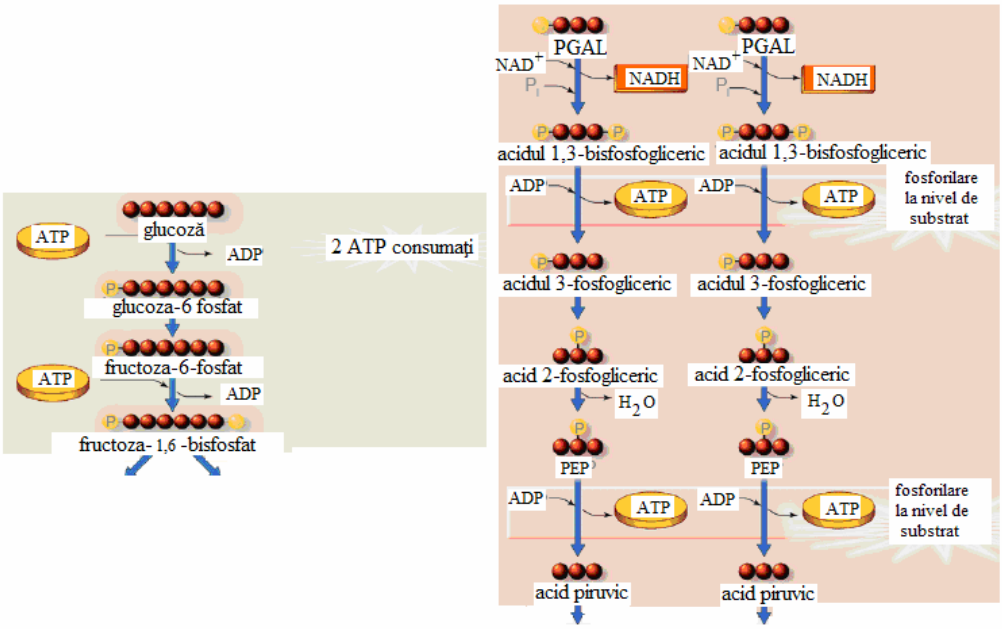


Fig. 8.4. Reacţiile specifice glicolizei

Prin urmare**, caracteristicile specifice şi rolul glicolizei** pot fi rezumate astfel**:**

● are loc în toate organismele vii (procariote, eucariote);

● este cel mai vechi stadiu al respiraţiei (denumită fiind şi faza anaerobă a respiraţiei aerobe);

● implică fosforilare, dehidrogenare şi modificări intramoleculare (rearanjare a atomilor în cadrul moleculelor);

● oxidarea are loc doar prin dehidrogenare, fără a fi implicat oxigenul molecular şi nu se eliberează CO_2;

● producerea de ATP (2 molecule) şi $NADH^+ + H^+$ (2 molecule);

ATP-ul este produs prin transfer direct a fosfatului de la substrat, la ADP. Deci, producerea de ATP este distinctă de sinteza de ATP prin fosforilare oxidativă, care utilizează transportul electronilor. NAD^+ este un cofactor de natură organică, asociat cu multe enzime, care catalizează reacţiile redox celulare.

● formarea unor molecule care pot ieşi din ciclu, servind sintezei altor constituenţi;

● acidul piruvic produs poate fi oxidat în mitocondrie, cu producerea unor cantităţi mari de ATP;

Glicoliza şi ciclul Krebs nu sunt singurele căi prin care plantele obţin energie, din oxidarea glucidelor la CO_2 şi H_2O.

O cale alternativă glicolizei este ciclul pentozo fosfat.

Ciclul pentozo – fosfat

Deoarece în acest *ciclu de reacţii alternative* sunt intermediari glucozo-fosfaţi care conţin cinci atomi de carbon, calea este numită pentozo-fosfat (PPP- „pentozo-phosphat-pathway") sau *ciclul pentozo-oxidativ.* Unii compuşi ai ciclului PPP sunt de asemenea membri ai ciclului Calvin (C_3 al fotosintezei), în care glucozo-fosfaţii sunt sintetizaţi în cloroplaste. Diferenţa esenţială între ciclul Calvin şi ciclul PPP este aceea că în ultimul caz, glucozo-fosfaţii sunt mai degrabă degradaţi, decât sintetizaţi (*fig.8.5.*).

Principalele caracteristici şi rolul ciclului PPP:

▪ ciclul PPP poate fi considerat o rută alternativă a compuşilor succesiv degradaţi prin glicoliză;

▪ glicoliza şi ciclul PPP au anumiţi reactanţi în comun;

▪ glicoliza şi ciclul PPP au loc în citosol, fiind interconectate;

▪ *diferenţa importantă* este aceea că, în ciclul PPP, acceptorul de electroni este întotdeauna $NADP^+$, în timp ce în glicoliză, acceptorul comun, obişnuit este NAD^+.

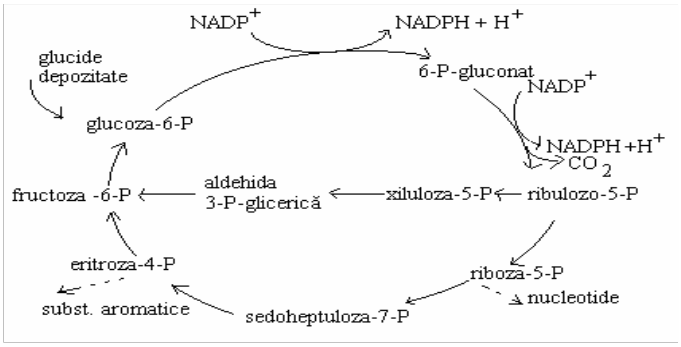


Fig. 8.5. Schema ciclului pentozo – fosfat

♦ este produs $NADPH^+ + H^+$, nucleotid care poate fi oxidat în mitocondrie, formându-se ATP;

♦ $NADPH^+ + H^+$ este specific folosit în numeroase reacţii de biosinteză, care necesită un donor de electroni;

♦ este produsă eritroza – 4-fosfat, compus care constituie un punct de plecare pentru reacţiile în care se produc numeroşi compuşi fenolici, cum sunt precursorii antocianilor, ligninei, fitoalexinelor;

♦ este produsă riboza-5-fosfat, care reprezintă precursorul unităţilor riboză şi deoxiriboză necesare în nucleotide.

Prin urmare, ciclul PPP este esenţial în plante, ca şi glicoliza şi ciclul Krebs.

8.2.3. Etapa a III-a de biodegradare a substanţelor organice de rezervă

Mitocondria-organitul specializat pentru desfăşurarea respiraţiei: particularităţi structurale şi funcţionale

Mitocondriile sunt organite celulare înconjurate de o membrană dublă lipoproteică. Membrana externă este netedă şi conţine circa 7% din proteine, iar cea internă este prevăzută cu pliuri, denumite *criste mitocondriaale* (conţine circa 50-60% din proteine). Spaţiul dintre cele două membrane poartă numele de *spaţiu intermembranal* (probabil 1-2% din proteine). Fluidul intern delimitat de criste este denumit *matrix* (cu 30% din proteine). Cele două membrane diferă din punct de vedere al compoziţiei chimice şi al proprietăţilor specifice. Astfel, membrana externă este permeabilă pentru numeroşi metaboliţi cu masa moleculară mică şi nu conţine transportori. Membrana internă se constituie ca o adevărată barieră dintre citoplasmă şi matrix. Este impermeabilă pentru majoritatea substanţelor şi conţine numeroşi transportori de electroni, precum şi ATP sintaza, care contribuie la fosforilarea oxidativă.

Principalul ***rol fiziologic*** al mitocondriilor este acela de producere de energie biochimică în cursul procesului de respiraţie aerobă. Mitocondriile sunt considerate de altfel " *uzinele energetice ale celulei* ".

8.2.3.1. Mecanismul biodegradării aerobe a acidului piruvic (respiraţiei mitocondriale) - faza a doua a respiraţiei

Faza a doua a respiraţiei presupune parcurgerea *următoarelor trepte*:

1) reacția de legătură dintre glicoliză și ciclul Krebs
2) ciclul Krebs sau ciclul acidului citric
3) transportul electronilor și fosforilarea oxidativă

1) Reacţia de legătură dintre glicoliză şi ciclul Krebs

Acidul piruvic rezultat în citosol intră în matrixul mitocondriei, prin intermediul unui transportor, care la nivelul membranei interne mitocondriale schimbă acidul piruvic, cu OH^-. Aici are loc conversia la acetil CoA, prin decarboxilare oxidativă (cu implicarea complexului enzimatic al piruvat dehidrogenazei - PDH) şi combinarea unităţii acetat cu 2C, cu un compus care conţine sulf (coenzima A).Totodată, în timpul formării acetil CoA, pe lângă pierderea de CO_2 se pierd şi 2 atomi de H^+. H^+ este acceptat de către NAD^+ şi rezultă $NADH^+ + H^+$ (*fig.8.6.*).

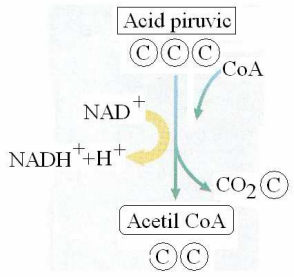


Fig.8.6. Reacţia de legătură

2) Ciclul Krebs

Acest ciclu de reacţii a fost propus de către biochimistul englez Hans A. Krebs, în 1937, pentru a explica cum anume acidul piruvic este degradat în mușchiul pieptului porumbeilor. Este denumit de asemenea *ciclul acidului citric* sau *ciclul acidului tricarboxilic*, având în vedere faptul că primul produs al ciclului Krebs este un acid tricarboxilic (acidul citric). Totodată, este denumit ciclu amfibolic, având în vedere că anumiți intermediari sunt utilizați în procese anabolice (sinteza aminoacizilor, sinteza lipidelor, sinteza pigmenților etc.).

Ciclul Krebs se desfășoară în matrixul mitocondrial și *constă dintr-o serie de reacții precum condensare, deshidratare, hidratare, dehidrogenare, decarboxilare, fosforilare* (*fig. 8.7.*).

▪ Acetil CoA este supusă unui proces de condensare cu acidul oxal acetic (4C) rezultând acidul citric (6C). Coenzima A se întoarce, pentru a forma o nouă moleculă de acetil CoA.

▪ Urmează eliberarea unei molecule de apă și formarea acidului cis-aconitic. Apoi, prin hidratarea celui din urmă se formează acidul izocitric (izomer al acidului citric).

▪ Prin dehidrogenarea (prima) acidului izocitric rezultă acidul oxalo-succinic (6C) și NAD^+ este redus la $NADH^+ + H^+$. Prin decarboxilarea acidului oxalo-succinic se formează acidul α - cetoglutaric (cu 5 C, dicarboxilic) și o moleculă de CO_2.

▪ Are loc conversia acidul α - cetoglutaric la succinil CoA (4C), printr-o dehidrogenare (a doua) și o decarboxilare. Se produce deci o nouă moleculă de CO_2, iar protonii eliberați sunt acceptați de către NAD^+, cu formarea $NADH^+ + H^+$.

▪ Urmează formarea acidului succinic (4C), în urma eliberării CoA din acetil CoA și totodată are loc fosforilarea la nivel de substrat, rezultând o moleculă de ATP. CoA este înlocuită de o grupare fosfat şi aceasta este ulterior transferată la GDP (guanozin difosfat) formându-se GTP (guanozin trifosfat). Acesta din urmă cedează gruparea fosfat la ADP (adenozin difosfat) şi astfel rezultă moleculă de ATP.

▪ Acidul succinic este transformat în acid fumaric (4C), iar hidrogenul rezultat în urma dehidrogenării (a treia) este acceptat de către FAD^+, cu formare de $FADH_2$.

▪ Prin a doua hidratare, are loc transformarea acidului fumaric, în acid malic (4C).

▪ Urmează cea de-a patra dehidrogenare, care conduce la formarea acidului oxal acetic (4C) și a $NADH^+ + H^+$. Iată deci, ciclul se încheie și totodată poate fi reluat.

Prin urmare, ciclul Krebs este însoțit de eliberarea unor electroni din acizii organici intermediari şi transferul acestor electroni la NAD^+, formându-se 3 molecule de $NADH^+ + H^+$ și o moleculă de $FADH_2$ pentru o moleculă de acid piruvic oxidat. Deci, dintr-o moleculă de glucoză se formează 6 molecule de $NADH^+ + H^+$ și 2 molecule de $FADH_2$. De asemenea, dintr-o moleculă de glucoză se formează două molecule de ATP. Nici o enzimă dehidrogenazică a acestui ciclu nu foloseşte $NADP^+$, ca acceptor de electroni. De altfel, $NADP^+$ este de obicei aproape nedetectabil în mitocondriile celulelor plantelor, în timp ce în cloroplaste este abundent $NADP^+$ şi adesea puţin NAD^+.

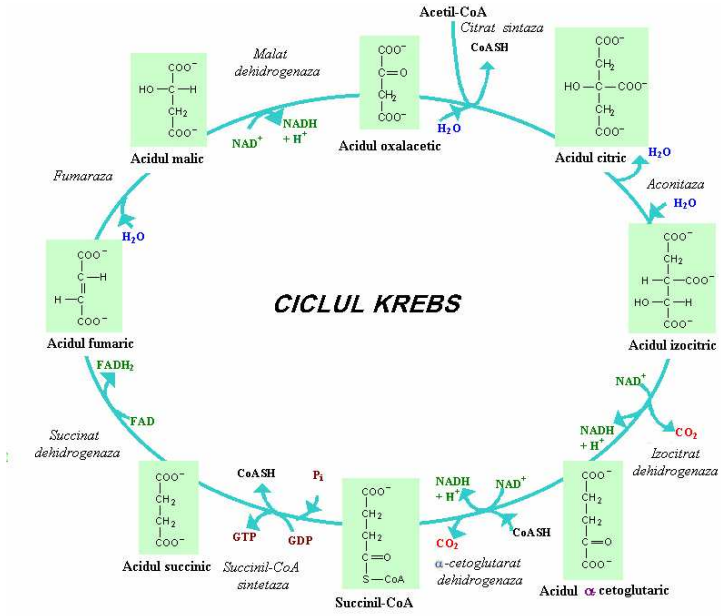


Fig. 8.7. Reacţiile specifice ciclului Krebs

Rolul fiziologic al ciclului Krebs:

● *formarea compuşilor intermediari*, importanţi pentru sinteza unor substanţe precum aminoacizi, acizi graşi, pigmenţi, acizi nucleici;

Intermediari ai ciclului Krebs sunt precursori pentru diferite reacţii de biosinteză. Astfel, acidul α-cetoglutaric, succinil CoA, acidul fumaric şi acidul oxalacetic sunt precursori pentru molecule importante. Prin transaminare, are loc conversia acidului glutamic la α-cetoglutaric şi invers. Acidul glutamic este precursor pentru sinteza altor aminoacizi şi nucleotide purinice. Succinil CoA este precursor pentru porfirine. Acidul oxalacetic poate fi transaminat pentru a forma acid aspartic, care la rândul său devine precursor pentru alţi aminoacizi şi nucleotide pirimidinice. Acidul oxalacetic este substrat pentru gluconeogeneză.

Acidul citric poate fi transportat în afara mitocondriei, în citosol, unde este biodegradat prin intermediul ATP-citrat liazei, cu formare de acid oxalacetic şi acetil CoA. Acetil CoA este precursor pentru acizii graşi. Acidul oxalacetic produs este redus la acid malic, care poate fi transportat înapoi în matrixul mitocondrial. Aici este reoxidat la acid oxalacetic sau acid malic şi poate fi decarboxilat oxidativ la acid piruvic, de către enzime malice, urmând a fi transportat înapoi în mitocondrie. Experimentele recente au evidenţiat complexitatea organizării şi operării ciclului în plante (Sweetlove şi al., 2010).

● *reducerea NAD^+ şi a FAD^+ la compuşi donatori de electroni* ($NADH^+ + H^+$ şi $FADH_2$), care apoi vor fi oxidaţi şi se va produce ATP;

● *sinteza directă a unei cantităţi limitate de ATP* (o moleculă de ATP, pentru o moleculă de acid piruvic oxidat);

3) Transportul electronilor şi fosforilarea oxidativă

Pentru asigurarea continuităţii ciclului Krebs, coenzimele reduse trebuie reoxidate şi aceasta se realizează prin transferul electronilor rezultaţi către O_2, rezultând H_2O ca produs final. În cazul organismelor care posedă mitocondrii, procesul implică o serie de transportori de electroni, dispuşi astfel încât să crească potenţialul redox, respectiv raportul dintre potenţialul reducător şi potenţialul oxidativ.

Principalele componente ale lanţului transportor de electroni

Pentru realizarea procesului de transport al electronilor concură în principal patru complexe proteice integrale, situate la nivelul membranei mitocondriale interne (*fig. 8.8.*):

1) complexul I –NADH-dehidrogenaza. Rolul său este de a asigura oxidarea $NADH^+ + H^+$ produs în matrixul mitocondrial şi de a transfera electronii la ubichinonă (UQ).

2) complexul II – succinat : ubichinonă oxidoreductaza. Acest complex catalizează oxidarea acidului succinic, la acid fumaric în timpul operării ciclului Krebs şi asigură transferul electronilor rezultaţi la ubichinonă. Ubichinona, denumită şi coenzima Q este o benzochinonă, solubilă în lipide. Există liberă în faza hidrofobă a membranei mitocondriale interne şi asigură atât un transport de electroni, cât şi un transport de protoni. Din punct de vedere structural şi funcţional se aseamănă cu plastochinona prezentă în membranele tilacoide ale cloroplastelor. Prin activitatea sa în cadrul a ceea ce se denumeşte **ciclul Q** (forma oxidată a coenzimei Q- ubichinona; semichinona intermediară; forma redusă a coenzimei Q- QH_2- ubiquinol) se asigură pomparea unui proton în plus per electron transportat, ceea ce sporeşte gradul de conservare a energiei. Ubichinona asigură legătura dintre complexul I şi complexul III.

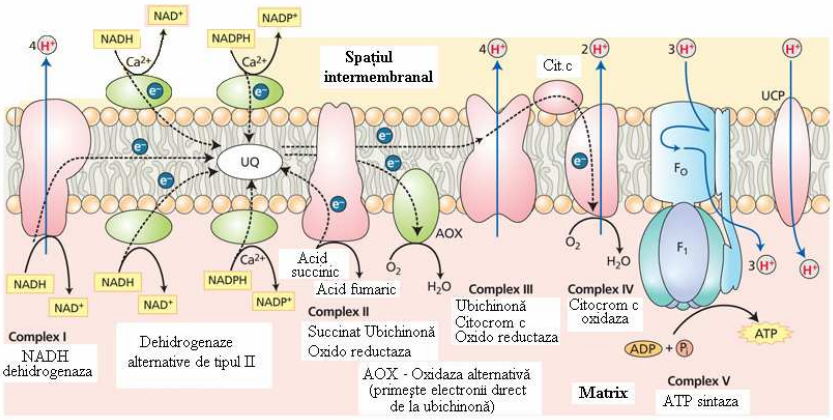


Fig. 8.8. Lanţul transportor de electroni şi fosforilarea oxidativă (după Rasmusson, 1991)

3) complexul III- ubichinonă:citocrom c oxidoreductaza. Acesta oxidează ubichinona redusă prin intermediul complexelor I şi II şi transferă electronii rezultaţi la citocromul c. Citocromul c este o proteină membranală periferică, mică (12,5 KDa), localizată în spaţiul intermembranal. El reprezintă singura proteină din lanţul de transfer a electronilor, care nu se constituie ca parte a unui complex proteic membranal integral.

Citocromul c redus este oxidat de complexul IV.

4) complexul IV- citocrom c oxidaza. Acesta reprezintă complexul terminal din seria transportorilor de electroni. El oxidează citocromul c şi transferă electronii la oxigenul molecular.

Pe parcursul transportului electronilor există *trei situsuri de conservare a energiei*, la nivelul complexelor I,III şi IV. La nivelul acestora, protonii sunt transportaţi transversal prin membrana internă, generând o forţă motrice, care conduce la sinteza ATP-ului.

F_0F_1 – ATP sintetaza nu este parte a lanţului transportor de electroni. Complexul este asociat cu membrana internă şi are un rol primar în fosforilarea oxidativă. Ca urmare, poate fi numit ***complexul V.*** Componenta F_1, multiproteică, periferică (solubilă în apă) conţine sediul catalitic al conversiei ADP şi P_a la ATP. De altfel, procesul se realizează în matrixul mitocondrial. Componenta F_0 este un complex proteic integral, care transportă H^+ transversal prin membrană (*fig. 8.9.*).

Cercetările recente asupra structurii zonei F_1 au redat date noi şi importante cu privire la mecanismul sintezei ATP. Pentru aceste descoperiri John şi al. au primit premiul Nobel în Chimie

în anul 1997. Componenta F_1 este alcătuită din cel puţin 5 unităţi diferite (trei α, trei β, una γ, una δ şi una ε). În privinţa **mecanismului de sinteză a ATP,** cel mai acceptat este cel denumit –„*binding change mechanism*”- propus iniţial de Paul Boyer. Caracteristica cheie a acestuia este aceea că *modificările conformaţionale în proteină* sunt critice. Energia depozitată în gradientul protonilor nu este folosită direct pentru sinteza ATP, într-un sens clasic, ci mai degrabă este folosită pentru eliberarea legăturii strânse a ATP, de situsul său catalitic de legare pe enzimă.

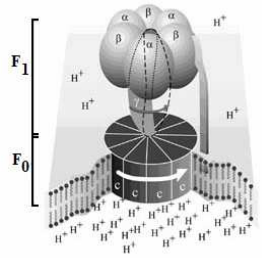


Fig. 8.9. Complexul ATP sintetaza

8.2.3.1.1. Bilanţul energetic al biodegradării glucozei

În cadrul glicolizei, dintr-o moleculă de glucoză se formează 4 molecule de ATP. Însă, câştigul net este 2 molecule de ATP, deoarece 2 molecule s-au folosit pentru fosforilările primei trepte. De asemenea, se formează 2 molecule de $NADH^+ + H^+$. Prin oxidarea acestora în cadrul lanţului de transport a electronilor se formează 6 molecule de ATP (căci prin oxidarea unei molecule de $NADH^+ + H^+$ se generează 3 moli de ATP). În consecinţă, glicoliza are ca rezultat formarea a 10 moli de ATP, din care doi moli fiind consumaţi în prima treaptă, câştigul net este de 8 moli de ATP, echivalentul a 240 kJ.

În cadrul reacției de legătură dintre glicoliză și ciclul Krebs, pentru o moleculă de glucoză se formează 2 molecule de $NADH^+ + H^+$. Oxidarea ulterioară a acestora conduce la formarea a 6 moli de ATP.

În ciclul Krebs, prin oxidarea unei molecule de acetil CoA se formează 3 molecule de $NADH^+ + H^+$ şi o moleculă de $FADH_2$, deci dintr-o moleculă de glucoza rezultă 6 molecule de $NADH^+ + H^+$ (echivalentul a 18 moli de ATP), respectiv 2 molecule de $FADH_2$ (echivalentul a 4 moli de ATP). Prin fosforilarea la nivel de substrat mai rezultă de asemenea 2 moli de ATP (per glucoză).

Prin biodegradarea glucozei se formează în total **38 moli ATP** (*tabelul 8.2.*), corespunzător a 1140 kJ (38 ATP * 30 kJ). Aceasta reprezintă 40% din energia rezultată din procesul de biodegradare a glucidelor (2870 kJ). Restul de 60% se elimină în mediul ambiant, sub formă de căldură. ATP-ul reprezintă forma de depozitare şi totodată forma sub care este transportată energia biochimică.

Tabelul 8.2.

Bilanţul energetic în funcţie de moleculele produse în cazul biodegradării glucozei

Specificaţia	**Citosol**	**Matrixul mitocondrial**	**Transportul electronilor şi fosforilarea oxidativă**	**Molecule de ATP**
Glicoliză	2 ATP → 2 $NADH^+ + H^+$ →	→ →	→ → 2 x (3 ATP) →	→ 2 ATP → 6 ATP
Acid piruvic → Acetil CoA	-	2 x 1 $NADH^+ + H^+$ →	2 x (3 ATP) →	→ 6 ATP
Ciclul Krebs	-	2 x (1 ATP) → 2 x (3 $NADH^+ + H^+$) → 2 x (1 $FADH^+ + H^+$) →	→ → 2 x (9 ATP) → → 2 x (2 ATP) →	→ 2 ATP →18 ATP → 4 ATP
TOTAL				38 ATP

8.2.3.1.2. Căi alternative, prin care se evită conservarea energiei, în cursul fosforilării oxidative

La celula vegetală, lanţul de transport a electronilor este puternic ramificat. Aceasta determină ca sistemul fosforilării oxidative să dispună de câteva căi alternative de transport a electronilor:

► **calea NAD(P)H dehidrogenazelor de tipul II** (NADH dehidrogenaza aparţine tipului I de dehidrogenaze);

► **calea oxidazei alternative** (AOX), ambele fiind specifice plantelor.

▲ De asemenea, există un transportor alternativ de protoni, aşa numita **proteină necuplată** (UCP) care se găseşte şi la celula animală. UCP din mitocondria plantelor are circa 32 KDa şi secvenţa genei a fost raportată prima oară la plante în anul 1997 (Laloi şi al., 1997).

NAD(P)H dehidrogenazele de tipul II concurează complexul I (NADH dehidrogenazele de tipul I). AOX conduce la neglijarea complexelor III şi IV, iar proteina necuplată neglijează ATP sintetaza (Rasmusson şi al., 2004). Teoretic, dehidrogenaza adiţională dinspre matrix, poate fi competitivă cu complexul I, pentru oxidarea $NADH^+ + H^+$ generat în urma operării ciclului Krebs. Totuşi, datele recente sugerează faptul că enzima acţionează mai probabil ca o NADPH dehidrogenază. NAD(P)H dehidrogenaza de pe faţa dinspre spaţiul intermembranal este cunoscută ca dehidrogenază externă. Ea poate oxida atât $NADH^+ + H^+$, cât şi $NADPH^+ + H^+$generate în citosol, dată fiind permeabilitatea membranei externe pentru molecule de până la 3 KDa mărime.

Ambele dehidrogenaze donează electronii direct la ubichinonă.

Cu toate acestea, nici una nu catalizează translocarea protonilor prin membrana internă. În consecinţă, în timpul transferului electronilor între NAD(P)H şi ubichinonă este pierdută energie sub formă de căldură şi nu este folosită pentru sinteza ATP. *În cazul acţiunii UCP,* se permite realizarea transportului protonilor din spaţiul intermembranal, către matrix, fără a avea loc o sinteză de ATP.

Diferenţierea între NADH dehidrogenaza (tipul I) şi dehidrogenazele alternative (tipul II) este aceea că prima este înhibată specific de rotenone, în timp ce dehidrogenazele de tipul II sunt rezistente la înhibitorii specifici complexului I (rotenone, capsaicin, piericidin) (Melo şi al., 2004).

Oxidaza alternativă constituie o altă caracteristică ce diferenţiază mitocondria celulei vegetale de mitocondria celulei animale. Recent, au fost prezentate date noi cu privire la implicarea sa în respiraţia cianid rezistentă (Ho şi al., 2007). AOX este o oxido-reductază care nu efectuează transport de protoni. Ea se diferenţiază de citocrom-c oxidaza normală, prin faptul că este insensibilă la cianid (CN^-), azide (N_3^-) şi monoxid de carbon (CO), toate acestea înhibând citocrom c oxidaza. Cu toate acestea, transportul electronilor prin ciclul alternativ poate fi specific înhibat de anumiţi compuşi, precum acidul salicilhidroxamic (SHAM). Determinările efectuate privind rata respiraţiei în perioada imbibiţiei şi germinării embrionilor de grâu au demonstrat care sunt concentraţiile adecvate ale acidului salicilhidroxamic (SHAM), pentru a înhiba ciclul cianid rezistent, fără vreun efect secundar (Psenakova şi al. , 1995).

În cazul acestui *ciclu respirator alternativ,* electronii de la nivelul ubichinolului (forma redusă a ubichinonei) nu sunt transportaţi mai departe în cadrul căii obişnuite, ci are loc transferul lor la oxigenul molecular, rezultând H_2O ca produs final.

Nu se generează un transport de protoni, iar energia eliberată în timpul transportului electronilor de la ubichinol, prin ciclul alternativ este pierdută sub formă de căldură. Prin urmare, două dintre situsurile de conservare a energiei (complex III şi IV) sunt neglijate.

Rolul ciclului respirator alternativ

Acest ciclu poate juca un rol semnificativ în procesul de respiraţie, dat fiind faptul că:

● în anumite condiţii, operarea acestui ciclu “ inutil “ poate fi necesară pentru menţinerea ratei de transport mitocondrial a electronilor;

De exemplu, în situaţia în care fluxul absolut al reductantului este ridicat, precum în cazul operării ciclului fotorespirator în ţesuturile fotosintetizante, ciclul alternativ este benefic.

AOX ca şi dehidrogenazele de tipul II pot acţiona ca enzime care reoxidează surplusul de $NADH^+ + H^+$ în cazul unui supraflux de e^- (Millenaar şi Lambers, 2003). Activitatea sa este mai intensă în celulele bogate în glucide, cum ar fi după o fotosinteză rapidă, intensificată. De asemenea, operează când glicoliza şi ciclul Krebs au loc neobişnuit de rapid, iar ciclul normal nu poate " manipula " toţi electronii disponibilizaţi. Se asigură astfel continuitatea ciclului Krebs, în condiţiile în care disponibilitatea ADP este redusă. Prin căile alternative se permite de asemenea desfăşurarea fotosintezei, prin oxidarea excesului de $NADPH^+ + H^+$ format în cloroplast.

La fructe climacterice precum mango (*Mangifera indica*) rata respiraţiei a crescut de peste 6 ori la maximul climacteric. O asemenea respiraţie a fost asociată cu evitarea fosforilării, ca urmare a insenzitivităţii la cianid şi s-a determinat abundenţa proteinei AOX pe parcursul maturării (Cousidine şi al., 2001).

● în condiţii de stres termic (temperaturi joase), când electronii trecuţi prin ciclul principal sunt oarecum restricţionaţi, transportul prin ciclul alternativ poate fi în competiţie cu transportul prin ciclul principal;

În cazul stresului indus de temperaturi joase s-a constatat o activitate sporită a AOX, ca urmare a formării speciilor reactive de oxigen (ROS). ROS pot provoca daune proteinelor, lipidelor şi prin urmare reacţia celulei este aceea de a limita formarea lor. AOX contribuie la prevenirea suprareducerii lanţului de transport a electronilor şi prin aceasta scade producerea de ROS (Maxwell şi al., 1999). De asemenea, activitatea UCP poate ca şi AOX să scadă supraproducerea şi formarea ROS (Fernie şi al., 2004). Activitatea celor două proteine distincte a fost evidenţiată de asemenea la tuberculii de cartof păstraţi la temperaturi joase, ori expuşi îmbătrânirii artificiale (Pinheiro şi al., 2004). Conceptul unei stări redox celulare a creat o platformă robustă pentru stabilirea importanţei reglării redox în biologia stresului (Potters şi al., 2010).

● calea AOX este implicată în ciclul acidifiere/deacidifiere la plantele CAM;

În cursul nopţii este asimilat CO_2 formându-se acid malic, care este stocat în vacuolă. Ziua, CO_2 fixat este eliberat prin intermediul enzimelor malice localizate în mitocondrie (conform cu posibilele căi de decarboxilare descrise anterior). Cercetările efectuate la *Kalanchoë drigremontiana* (Robinson şi al., 1992) au evidenţiat creşterea ratei respiraţiei în frunze cu 35% la începutul zilelor calde. Aceasta s-a datorat sporirii activităţii AOX, desigur în relaţie cu metabolizarea acidului malic. Pe măsura dispariţiei acidului malic, respectiv la mijlocul zilei, activitatea AOX a revenit la nivelul activităţii specifice pe parcursul nopţii. Prin urmare, în acest caz, o mare parte a acidului malic a fost oxidată pe calea enzimelor malice din mitocondrie. Cantitatea de $NADH^+ + H^+$ formată în exces în matrix a fost oxidată în mare parte pe calea AOX.

● calea AOX este în mod specific activă în speciile termogenice (creşterea temperaturii la *Araceae* în cursul înfloririi);

Spre exemplu, expresia genei AOX este puternică pe parcursul termogenezei la *Dracunculus vulgaris* care biodegradează hidraţii de carbon (Ito şi Seymour, 2005), iar la *P. sellonum* care biodegradează lipide, producerea de căldură poate fi asociată cu proteinele necuplate. Recent, rolul AOX în termogeneză a fost pus în discuţie prin descoperirea proteinelor necuplate, inclusiv la spadixul termogen la *Symplocarpus foetidus* şi receptaculii termogeni la lotus (*Nelumbo nucifera*) (Watling şi al., 2006). În aceste cazuri, rata respiraţiei creşte aproape liniar, pe măsură ce

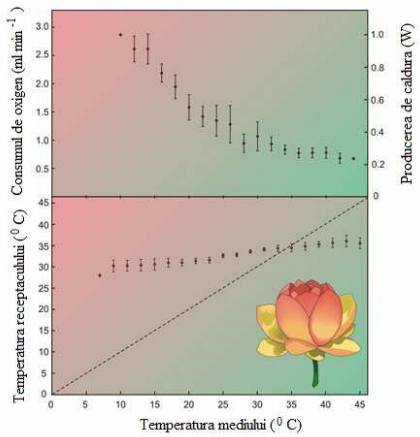


Fig. 8.10. Rata respiraţiei şi a producerii de căldură (sus) şi temperatura receptaculului central (jos) la *Nelumbo nucifera*

temperatura scade sub 30^0C, iar temperatura medie a florii este aproape constantă (*fig. 8.10*.) (Seymour şi Schultze-Motel, 1998). Conform cu legile simple ale fizicii, pentru a se menţine o temperatură stabilă la nivelul florii, rata producerii de căldură la acest nivel trebuie să fie proporţională cu diferenţa de temperatură dintre aceasta şi aer.

8.2.3.2. Biodegradarea anaerobă a acidului piruvic

Biodegradarea anaerobă a acidului piruvic se realizează în absenţa oxigenului molecular din atmosferă. Este specifică unor *plante inferioare anaerobionte* (precum unele bacterii şi ciuperci) şi se realizează sub acţiunea enzimelor produse de *microorganisme*, fiind denumită fermentaţie.

Procesul se întâlneşte şi la unele *organe vegetative ale plantelor superioare*, bogate în glucide de rezervă (tuberculi de cartof, celule vii situate în profunzime la fructe, în cazul terenurilor inundate etc.). De asemenea, biodegradarea anaerobă poate fi pusă în evidenţă la seminţele în curs de germinare, în cazul în care lipseşte oxigenul. În astfel de situaţii, acidul piruvic rezultat în glicoliză este metabolizat pe cale fermentativă, cel mai adesea pe cale alcoolică sau cale lactică. În acest caz, enzimele care catalizează reacţiile biochimice sunt proprii celulelor vii ale ţesutului respectiv.

8.2.3.2.1. Mecanismul căilor fermentative la plantele superioare şi importanţa practică

A) Calea fermentativă alcoolică

Acidul piruvic rezultat în urma glicolizei este biodegradat la nivelul citosolului. Are loc decarboxilarea acidului piruvic la aldehidă acetică, sub acţiunea enzimei piruvic decarboxilază. Ulterior, aldehida acetică este redusă la alcool etilic, iar procesul este catalizat de enzima alcool dehidrogenază.

Prin urmare, dintr-o moleculă de glucoză se formează două molecule de alcool etilic, două molecule de dioxid de carbon şi două molecule de ATP (*fig.8.11*.).

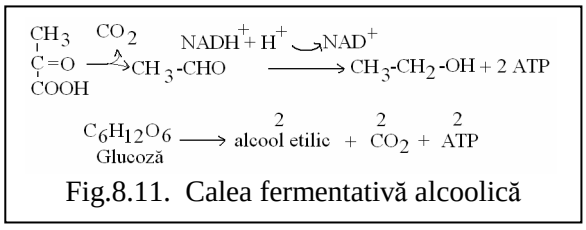


Fig.8.11. Calea fermentativă alcoolică

Conform ecuaţiei generale, se remarcă faptul că spre deosebire de biodegradarea aerobă, în cazul căii fermentative alcoolice nu rezultă apă endogenă, rezultă o cantitate mică de dioxid de carbon şi cantitatea de energie rezultată este mică (deoarece o parte din energie rămâne încorporată în produşii intermediari – ex. alcool).

B) Calea fermentativă lactică

Acidul piruvic este supus unei hidrogenări şi dintr-o moleculă de glucoză rezultă două molecule de acid lactic şi o cantitate redusă de energie (*fig.8.12*.). Nu rezultă dioxid de carbon, deoarece acidul piruvic nu este decarboxilat.

Prin urmare, pentru biodegradarea glucozei, glicoliza este o etapă comună atât biodegradării aerobe, cât şi celei anaerobe. În continuare se remarcă anumite deosebiri:

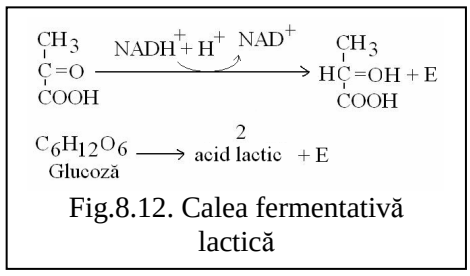


Fig.8.12. Calea fermentativă lactică

- în urma biodegradării anaerobe a acidului piruvic nu rezultă apă endogenă;
- se produce o cantitate mică de CO_2 (calea alcoolică) şi nu rezultă CO_2 (calea lactică);
- rezultă o cantitate mică de energie în cazul căilor fermentative;
- viteza de biodegradare este mult mai mare;
- este metabolizată o cantitate mai mare de substrat respirator;
- produşii finali ai biodegradării anaerobe sunt: alcoolul etilic, acidul lactic etc.

Importanţa căilor fermentative la plantele superioare

Plantele superioare aflate în condiţii de anaerobioză pot supravieţui un anumit timp, prin desfăşurarea biodegradării anaerobe a acidului piruvic şi utilizarea cantităţii reduse de energie biochimică rezultată în urma acestui proces. Astfel de situaţii pot apărea în cazul ţesuturilor profunde, la fructe supramaturate, precum şi la rădăcinile plantelor inundate. Pentru organele plantelor păstrate în condiţii cu o concentraţie redusă de oxigen şi o concentraţie ridicată de dioxid de carbon, generarea condiţiilor de anaerobioză totală sau parţială asigură supravieţuirea acestora o perioadă scurtă de timp. Dacă însă se prelungeşte timpul de menţinere într-un astfel de mediu, se determină acumularea alcoolului etilic şi aldehidei acetice, substanţe care devin toxice pentru celule.

Spre exemplu, în ţesuturile fructelor cu un grad mai avansat de maturitate, acumularea aldehidei acetice şi a alcoolului etilic determină deprecierea calitativă a merelor şi perelor, iar această dereglare fiziologică este denumită brunificarea internă de supramaturare.

În cazul cartofilor timpurii lăsaţi pe sol sub acţiunea radiaţiilor solare se înregistrează o intensificare a procesului de respiraţie, în relaţie directă cu creşterea temperaturii. Ca urmare a faptului că cerinţele pentru oxigen sunt mai mari, comparativ cu cantitatea care poate pătrunde către zonele interne, se creează condiţii de anaerobioză. Aceasta determină brunificarea internă de origine fermentativă şi din cauza autolizei celulelor se formează adevărate caverne. Această dereglare fiziologică este cunoscută sub numele de inima neagră a cartofului. Pentru cartofii de toamnă depozitaţi în vrac, dacă ventilaţia este necorespunzătoare, se poate de asemenea determina biodegradarea anaerobă a glucidelor şi brunificarea ţesuturilor din mijlocul tuberculilor.

Inundarea de lungă durată a terenurilor determină de asemenea biodegradarea anaerobă la nivelul celulelor rădăcinii.

8.3. Factorii care influenţează procesul de respiraţie şi importanţa practică a cunoştinţelor privind respiraţia plantelor

Intensitatea procesului de respiraţie este influenţată de numeroşi factori interni (specia, vârsta plantei, organul şi ţesutul plantei etc.) şi externi (temperatura, compoziţia atmosferei, umiditatea etc.). De asemenea, există relaţii cantitative între respiraţie, creştere, fotosinteză, absorbţia elementelor minerale etc.

Pentru înţelegerea acestor relaţii s-a introdus conceptul a două componente principale ale respiraţiei:

♦ *respiraţia de creştere* (R_c) – cea asociată cu conversia substanţelor organice pe parcursul formării noilor structuri celulare în timpul creşterii;

♦ *respiraţia de întreţinere* (R_i)- în legătură cu menţinerea principalelor funcţii şi structuri în condiţiile creşterii zero.

Relaţia dintre producerea de substanţă uscată şi cantitatea de substanţă consumată a fost definită de Tanaka (1977) şi redată prin ceea ce se denumeşte *eficienţa creşterii*. Desigur, consumul substanţelor în respiraţie este absolut necesar, în vederea asigurării pe de o parte a energiei necesare desfăşurării proceselor fiziologice şi pe de altă parte a scheletelor cu carbon, pentru sinteza a noi substanţe. Dar, trebuie pe cât posibil mărită eficienţa respiraţiei şi a coeficientului de creştere. S-a determinat că rata respiraţiei pe parcursul nopţii a fost proporţională cu cantitatea de CO_2 absorbită în timpul zilei. De asemenea, s-a estimat că eliberarea de CO_2 noaptea corespunde cu circa 14 % din absorbţia zilnică. Cercetările au condus la concluzia că circa 25% din asimilate sunt cheltuite în respiraţie.

Respiraţia de întreţinere este proporţională cu masa uscată a plantelor şi depinde foarte mult de temperatură. În general, plantele pierd 1-2% din carbonul asimilat pentru menţinere. În primele stadii de creştere, pierderile sunt mai mici, decât la plantele mature.

În cazul asigurării unei atmosfere îmbogăţite în CO_2, la soia s-a demonstrat o creştere a coeficientului de respiraţie cu 34%, odată cu creşterea concentraţiei de CO_2, în timp ce coeficientul

de creştere nu a fost afectat semnificativ (Thomas şi Griflin, 1994). Modificările respiraţiei de întreţinere s-au corelat cu o creştere cu 33% a concentraţiei totale de hidraţi de carbon nestructurali în frunză. Concentraţia de azot a frunzelor de soia nu a fost afectată de îmbogăţirea cu CO_2 a atmosferei. Prin urmare, intensificarea respiraţiei de întreţinere poate fi o consecinţă a sporirii acumulării hidraţilor de carbon nestructurali.

Factorii interni care influenţează respiraţia

1) Specia Având în vedere diversitatea speciilor de plante este de aşteptat ca şi metabolismul acestora să difere şi prin urmare inclusiv rata respiraţiei să prezinte variaţii funcţie de specie. Astfel, la plantele inferioare (bacterii, ciuperci) rata respiraţiei este mult mai mare, comparativ cu valorile medii a tuturor organelor înregistrate la plantele superioare.

2) Vârsta plantei Dacă se consideră intensitatea respiraţiei la o plantă de floarea soarelui, de la germinare şi până după înflorit, trebuie precizat că pe parcursul imbibiţiei şi al germinării se înregistrează o activitate respiratorie intensă. De asemenea, respiraţia se menţine la valori mari pe parcursul creşterii vegetative, urmând ca înainte de înflorire rata respiraţiei să înceapă să scadă.

3) Organul şi ţesutul plantei La o plantă întreagă matură, rata respiraţiei este dată de activitatea metabolică a frunzelor tinere, a rădăcinilor şi a florilor în formare.

Valorile minime se înregistrează în cazul rădăcinilor, iar valorile maxime în cazul florilor. În general, ţesuturile fiziologic active, precum ţesuturile meristematice au o intensitate respiratorie mai mare, comparativ cu alte ţesuturi.

Ţesuturile tinere au respiraţie mai intensă decât ţesuturile mature, care au o mai mică masă fiziologic activă. În cazul pomilor spre exemplu, respiraţia lăstarilor este mai rapidă pe unitatea de masă uscată, comparativ cu respiraţia ramurilor. Respiraţia frunzelor tinere este mai intensă, decât la frunzele bătrâne.

Dacă facem referire la diferite organe şi ţesuturi, rata respiraţiei prezintă o deosebită importanţă practică pentru menţinerea calităţii, în special în perioada post-recoltă.

! *Intensitatea respiraţiei constituie un indicator pentru aprecierea gradului de perisabilitate a diferitelor organe ale plantelor.*

În general, durata de păstrare variază invers proporţional cu rata respiraţiei. Respiraţia asigură compuşi care influenţează rata proceselor metabolice, cu efecte directe asupra parametrilor calitativi: fermitate, conţinut în glucide, aromă, savoare etc. Spre exemplu, perioada de păstrare la brocoli, salată, mazăre, spanac (toate cu rate respiratorii mari) este scurtă: 2-7 zile, comparativ cu cea a merelor, cepei, cartofului, seminţe uscate (toate cu rate respiratorii mai mici). Seminţele uscate îşi menţin calitatea pe parcursul mai multor ani (*tabelul 8.3.*).

Tabelul 8.3.

Rata respiraţiei unor produse diferite ca perisabilitate

Clasa	Limitele la 5^0C (mg CO_2/kg/h)	Produse
Foarte mică	<5	Nuci
Mică	5-10	Mere, citrice, ceapă, cartof, struguri
Moderată	10-20	Caise, banane, cireşe, piersici, pere, prune, ardei, tomate
Mare	20-40	Căpşuni, afine, conopidă, avocado
Foarte mare	40-60	Flori tăiate, varza de Brussels
Extrem de mare	>60	Ciuperci, spanac, mazăre, brocoli

În cazul seminţelor, a bulbilor, a tuberculilor etc. caracterizate printr-o perioadă de dormanţă, în acest interval de timp rata respiraţiei este redusă. De exemplu, la seminţe, intensitatea respiraţiei este de 0,007-0,009 mg CO_2/kg/h şi creşte marcant în timpul germinării (600 mg CO_2/kg/h).

! *Intensitatea procesului de respiraţie reprezintă unul dintre indicatorii utilizaţi pentru precizarea momentului de intrare şi ieşire din dormanţă a mugurilor (rădăcinoase, cartofi, ceapă, pomi fructiferi, material săditor horticol etc.) şi a embrionilor seminţelor.*

4) Stadiul de dezvoltare al organului Aşa cum s-a precizat anterior, rata respiraţiei are valori mici la organe precum, nuci, tuberculi, în schimb, ţesuturile cu meristeme vegetative şi florale, precum asparagus şi brocoli au rate respiratorii mari. Pe măsura maturării organelor plantei, rata respiraţiei în mod tipic înregistrează un declin. Prin urmare, produsele horticole recoltate în perioada creşterii active (de exemplu multe legume şi fructe imature) au rate respiratorii mari. În schimb, fructele mature, mugurii dorminzi şi diferite organe de depozitare au rate respiratorii mici.

În privinţa fructelor, prezintă o deosebită importanţă modificările ratei respiraţiei pe parcursul dezvoltării lor, dar mai ales în preajma momentului maturării, cât şi în perioada post-recoltă.

În general, la toate fructele se înregistrează valori mari ale respiraţiei când acestea sunt tinere, în cursul diviziunilor intense şi ale extensiei celulare. Urmează un declin gradual, lent la fructe şi organe de depozitare ne-climacterice şi rapid în ţesuturi vegetative şi fructe imature. Declinul rapid reflectă probabil reducerea cantitativă a substratului respirator, care este scăzut în astfel de ţesuturi. În cazul multor specii însă (cum este şi cazul merelor), declinul este la un moment dat întrerupt de o intensificare rapidă a respiraţiei pe parcursul maturării, aşa numitul **climacteric.** Acest moment coincide cu maturitatea de consum şi este precedat de o intensificare a biosintezei etilenei. Procesul presupune parcurgerea a patru faze distincte: *minim preclimacteric, creştere climacterică, picul climacteric şi declinul post-climacteric* (*fig. 8.13.*).

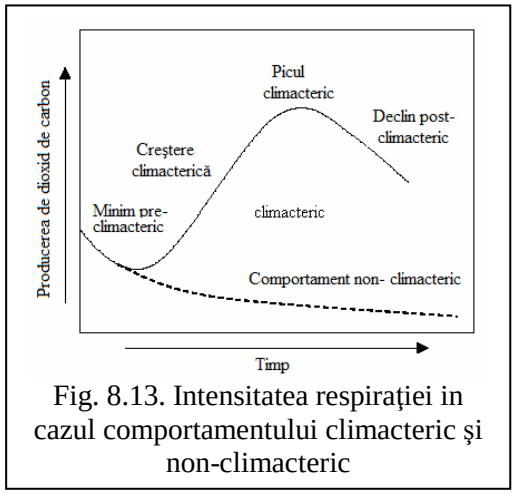


Fig. 8.13. Intensitatea respiraţiei in cazul comportamentului climacteric şi non-climacteric

Din acest punct de vedere se disting:

♦ **fructe climacterice** (mere, caise, banane, kiwi, nectarine, piersice, pere, prune, tomate etc.);

♦ **fructe neclimacterice** (struguri, căpşune, afine, cireşe, lămâi, castraveţi, ananas etc.).

Acţiunea etilenei (hormon de maturare al plantelor) se manifestă în mod specific în funcţie de specie. La speciile climacterice devansează apariţia climactericului respirator, în timp ce la cele neclimacterice, tratamentele cu etilenă pot determina apariţia unui maximum climacteric.

! *În cazul organelor climacterice, intensitatea procesului de respiraţie constituie un indicator pentru aprecierea momentului optim de recoltare, având în vedere că faza de preclimacteric corespunde cu momentul de recoltare a fructelor destinate păstrării îndelungate, în timp ce faza de climacteric corespunde cu maturitatea de consum.*

Există o relaţie strânsă între *rata respiraţiei şi viaţa de raft*:

● pentru multe legume (ex. castraveţi, salată) şi fructe neclimacterice (ex. căpşuni) calitatea prezintă valori maxime la recoltare, iar condiţiile de păstrare sunt optimizate pentru a se preveni diminuarea calităţii;

● în contrast, multe flori (ex. garoafe, trandafiri), fructe neclimacterice (ex. lămâi, portocale) şi fructe climacterice ex. (banane, tomate) se recoltează înainte de a atinge cele mai bune caracteristici calitative, iar condiţiile de păstrare sunt optimizate pentru a se permite dezvoltarea calităţii optime.

În primul caz, sinteza de noi compuşi organici nu este necesară, deoarece prin aceasta se permite reducerea calităţii (enzime care distrug clorofila la salată). În al doilea caz, sinteza pigmenţilor şi a substanţelor volatile (licopen la tomate şi esteri amilici la banane), pierderea

clorofilei (la banane şi lămâi), precum şi conversia amidonului la glucide simple (la mere şi banane permiţând îndulcirea) sunt procese necesare pentru dezvoltarea caracteristicilor calităţii maxime.

! *Rata respiraţiei reprezintă unul dintre indicatorii folosiţi pentru precizarea condiţiilor optime de păstrare a legumelor, fructelor, seminţelor şi a materialului săditor horticol (temperatură, umiditate, compoziţie a atmosferei etc.) aşa încât respiraţia să se desfăşoare lent, iar consumul de substanţe energetice să fie cât mai redus.*

5) Substratul respirator Pe de o parte, prezintă importanţă cantitatea substratului respirator, respectiv existenţa în cantităţi suficiente a substanţelor de rezervă, în special amidon, fructani, alte glucide. Alături de acestea pot fi utilizate lipide, proteine, acizi organici, alcooli etc. În cazul unei nutriţii deficitare şi a acumulării unei cantităţi reduse de substrat, rata respiraţiei este redusă.

Referitor la natura substratului respirator, spre exemplu, compoziţia fructului este cea care determină care anume substraturi sunt utilizate pentru respiraţie. Aceasta se exprimă sub forma ***câtului respirator*** (**coeficientului respirator) (RQ**) şi reprezintă raportul dintre CO_2 produs în respiraţie / O_2 consumat în acest proces (măsuraţi în moli sau volume). Pentru glucide, valorile lui RQ sunt apropiate de 1, < 1 pentru lipide şi > 1 pentru acizi organici (ex. 1,33 pentru acidul malic). Valorile mai mari indică de obicei o respiraţie anaerobă sau biodegradări datorate senescenţei. La fructe în cursul maturării, când are loc conversia amidonului la glucide simple se înregistrează o creştere a ratei respiraţiei.

! *Valoarea câtului respirator reprezintă un indicator pentru aprecierea ritmului de biodegradare a substanţelor de rezervă.*

6) Conţinutul în apă al celulelor

În cazul rădăcinilor, a tulpinilor şi frunzelor, variaţiile mici ale conţinutului de apă nu influenţează evident intensitatea procesului de respiraţie.

Acţiunea acestui factor *se manifestă pregnant asupra seminţelor*. Dacă conţinutul de apă depăşeşte cu circa 4-6 % umiditatea critică (7-8 % la seminţele oleaginoase şi 12-14 % la cele amidonoase) seminţele germinează, iar respiraţia se intensifică.

În cazul păstrării seminţelor, pentru prelungirea perioadei de păstrare, seminţele trebuie să aibă un conţinut redus de apă (12-14% la cereale; 7-9% la seminţe de oleaginoase; 14-15% în cazul seminţelor leguminoaselor), iar respiraţia trebuie menţinută la valori reduse.

Dacă *umiditatea* depăşeşte anumite valori, respiraţia devine intensă, are loc eliberarea de energie, mai ales energie calorică, ceea ce provoacă creşterea temperaturii în masa seminţelor. De asemenea, rezultă apă endogenă, care face să crească umiditatea seminţelor, iar respiraţia se intensifică. Ca urmare, se creează condiţii pentru dezvoltarea a diferite microorganisme şi se ajunge la autoîncingerea seminţelor, ca şi la deprecierea fânului stocat cu un conţinut mare de apă.

Pentru tuberculi, bulbi, rizomi, rădăcini tuberizate etc. puse la păstrat, trebuie mai întâi să fie lăsaţi să se zvânte şi de asemenea trebuie îndepărtate părţile rănite la recoltare, deoarece asemenea zone respiră foarte intens şi este favorizată instalarea microorganismelor.

7) Starea de sănătate a plantei

Lezarea mecanică a ţesuturilor determină o intensificare a procesului de respiraţie, având în vedere cerinţele sporite de energie biochimică în cadrul reacţiilor de biosinteză a noi substanţe în scopul cicatrizării leziunilor. În cazul atacului unor agenţi patogeni, în general, în cele mai multe situaţii intensitatea procesului de respiraţie este mai mare, comparativ cu plantele sănătoase.

Intensificarea respiraţiei se poate datora: reacţiei celulelor şi ţesuturilor plantei gazdă la daunele provocate de agentul patogen; modificărilor ultrastructurale; sporirii activităţii unor enzime; intensificarea activităţii unei părţi a sistemului oxidativ; necuplarea procesului de transport a electronilor cu sinteza ATP; creşterii consumului de substanţe bogate în energie (ATP, NADH) etc.

Factorii externi care influenţează respiraţia

1) Temperatura

Temperatura reprezintă cel mai important factor care afectează rata respiraţiei şi în general rata respiraţiei creşte exponenţial între 10-25^{0}C, odată cu creşterea temperaturii, dar sub 10^{0}C, răspunsul tipic este aproximativ liniar. Prezintă o importanţă deosebită în special în perioada post-recoltă, deoarece are efecte marcante asupra ratei de desfăşurare a reacţiilor biologice în general.

Procesul de respiraţie se desfăşoară în limite largi de temperatură, chiar la temperaturi negative (-7^{0}C la grâu şi -30..-40^{0}C la conifere), iar între 0^{0}C şi 40^{0}C, rata respiraţiei decurge conform legii lui Van't Hoff, respectiv la creşterea temperaturii cu 10^{0}C se înregistrează în medie o dublare a intensităţii respiraţiei. Acest *coeficient de temperatură* specific pentru un interval de 10^{0}C este denumit **Q_{10}** şi se calculează ca raport al ratei respiraţiei la o temperatură mai mare şi rata respiraţiei la o temperatură mai mică cu 10^{0}C ($Q_{10} = R_2/R_1$). La temperaturi mai mari, Q_{10} are de obicei valori mai mici, decât la temperaturi mai mici (*tabelul 8.4.*).

Tabelul 8.4.

Valorile Q_{10} pentru diferite intervale de temperaturi

Temperatura (^{0}C)	Q_{10}
0-10	2,5-4,0
10-20	2,0-2,5
20-30	1,5-2,0
30-40	1,0-1,5

La temperaturi mai mari (peste 35^{0}C) are loc o diminuare a ratei respiraţiei ca urmare a alterării enzimelor.

În cazul tuberculilor de cartof, pentru păstrare în depozit se recomandă asigurarea unei temperaturi cuprinse între +4^{o}C - +7^{o}C. Dacă temperatura este sub +4^{o}C respiraţia este lentă, mai lentă decât viteza de hidroliză a amidonului şi ca urmare se acumulează glucide solubile, apare fenomenul de îndulcire a cartofilor. Dacă temperatura de păstrare este peste +7^{o}C, procesul de respiraţie se intensifică şi se consumă o cantitate mare de substanţă organică de rezervă. Totodată, pentru păstrarea rădăcinoaselor (sfeclă, morcov) se recomandă o temperatură de +4^o - +5^{o}C.

2) Compoziţia atmosferei

Asigurarea oxigenului reprezintă o condiţie pentru desfăşurarea respiraţiei, însă variaţiile normale ale acestuia în aer au efecte foarte reduse asupra respiraţiei frunzelor sau tulpinilor, căci rata difuziunii sale în respectivele organe este suficientă, pentru a menţine la nivele normale concentraţia la nivel mitocondrial. O difuziune mai lentă are loc în cazul unor organe precum rădăcini de morcov, tuberculi de cartof, alte organe de depozitare, dar şi în aceste cazuri s-a determinat o respiraţie mitocondrială, chiar dacă la valori foarte mici. Difuziunea oxigenului prin spaţiile intercelulare permite deplasarea de la frunze la rădăcini. Dintre plantele cultivate, doar orezul tolerează condiţiile anoxe, iar o modificare morfologică de adaptare a rădăcinilor este formarea ţesutului *aerenchim.*

Prin urmare, asigurarea condiţiilor realizării respiraţiei de la semănat (pentru favorizarea germinării) şi trecerea la starea de viaţă activă a organelor vegetative (bulbi, tuberculi, rizomi etc.), prin pregătirea corespunzătoare a stratului arabil constituie o condiţie absolut necesară desfăşurării procesului.

Din punct de vedere *practic,* un factor important al supravieţuirii în condiţii de hipoxie, ori anoxe este capacitatea de exprimare a diferite gene, gene care codifică sinteza unor enzime care ajută la depăşirea stresului metabolic.

Raportul dintre concentraţia **dioxidului de carbon şi respectiv a oxigenului din aer** prezintă o importanţă deosebită, mai ales pentru păstrarea produselor horticole în perioada post-

recoltă. Reducerea concentraţiei de oxigen din *depozitele cu atmosferă controlată* la 3% a determinat în cazul legumelor şi fructelor diminuarea intensităţii procesului de respiraţie. De altfel, o diminuare a concentraţiei de oxigen de la 21%, la 3%, concomitent cu creşterea celei de dioxid de carbon de la 0,003%, la 3% constituie un procedeu tehnologic aplicat pentru păstrarea merelor şi perelor, procedeu cunoscut sub denumirea de atmosferă controlată. În astfel de condiţii, intensitatea respiraţiei în cazul merelor se reduce de la un nivel de 100% în condiţiile atmosferei cu o compoziţie normală, la 37,5-61,4%. Cercetările efectuate de către Miquel şi al. (2004) au condus la concluzia că, contrar celor prezentate anterior, rata specifică a respiraţiei nu este în general redusă când plantele sunt crescute la concentraţii mari de CO_2 , deoarece efectele directe ale dioxidului de carbon asupra enzimelor respiraţiei sunt irelevante, relativ la ratele specifice ale respiraţiei organelor.

3) Umiditatea solului

Umiditatea solului influenţează rata respiraţiei în cazul ambelor extreme. Excesul generează condiţii de anaerobioză la nivelul sistemului radicular şi deci determină inhibarea respiraţiei, în timp ce insuficienţa apei din sol determină închiderea hidroactivă a stomatelor şi totodată limitarea aprovizionării cu oxigen, precum şi inhibarea fotosintezei.

Întrebări

1. Respiraţia: definiţie, ecuaţie generală, importanţă.
2. Etapele biodegradării amidonului, ca substanţă organică de rezervă.
3. Biodegradarea glucozei pe calea glicolizei.
4. Mecanismul respiraţiei mitocondriale.
5. Bilanţul energetic al biodegradării glucozei.
6. Importanţa ciclului respirator alternativ.
7. Principalele căi fermentative la plantele superioare şi importanţa acestora.
8. Influenţa factorilor interni şi externi asupra respiraţiei – importanţa practică.

Bibliografie selectivă

Bruhn, D. 2002. Plant respiration and climate change effects. Ph.D Thesis. Univ. of Copenhagen.

Ho, L.M.H. şi al. 2007. Characterization of the regulatory and expression context of an alternative oxidase gene provides insights into cyanide-insensitive respiration during growth and development. Plant Physiology, Vol. 143: 1519- 1533.

Ito , K. and Seymour, R.S. 2005. Expression of uncoupling protein and alternative oxidase depend on lipid or carbohydrate substrates in thermogenic plants. Biol. Lett., Vol. 1: 427-430.

Laloi, M., Klein, M., Riesmeier, J.W., Muller-Rober, B., Fleury, C., Bouillaud, F. and Ricquier, D. 1997. A plant cold-induced uncoupling protein. Nature, Vol. 389: 135-136.

Maxwell, D.P. şi al. 1999. The alernative oxidase lowers mitochondrial reactive oxygen production in plant cell. Plant Biology, Vol. 96: 8271- 8276.

Melo, A:M.P., Bandeiras, T.M., Teixeira, M. 2004. New insights into type II NAD(P)H: quinone oxidoreductases. Microbiology and Molecular Biology Review, Vol. 68: 603-616.

Miquel, A. et al. 2004. Plant respiration and elevated atmospheric CO_2 concentration: cellular responses and global significance. Annals of Botany, Vol. : 1-10.

Pinheiro, H.A. şi al. 2004. Activity of alternative oxidase and plant uncoupling mitochondrial protein in potato tubers stored at low temperature or submitted to artificial aging. Braz. J. Plant Physiol., Vol. 16: 69- 76.

Potters, G., Horemans, N., jansen, M.A.K. 2010. The cellular redox state in plant stress biology – A charging concept. Plant Physiology and Biochemistry, Vol 48:292-300.

Sweetlove, L.J., Beard, K.F.M., Nunes-Nesi, A., Fernie, A.R., Ratcliffe, R.G. 2010. Not just a circle: flux modes in the plant TCA cycle. Trends in Plant Science, 1-9.

CAPITOLUL 9

FIZIOLOGIA CREŞTERII ŞI DEZVOLTĂRII PLANTELOR

Cuvinte cheie: *ciclu ontogenetic, creştere, dezvoltare, specii monocarpice, specii policarpice, meristem, mereză, auxeză, diferenţiere, polaritate, regenerare, dominanţă apicală, corelaţii, tropisme, nastii, nutaţii, gene ale înfloritului, fotoperiodism, fitocrom, vernalizare, termoperiodism, senescenţă, abscisie, moarte, factori interni şi externi, fitohormoni*

Obiective:

● definirea termenilor: creştere şi dezvoltare a plantelor;
● explicarea paticularităţilor specifice creşterii plantelor: etapele creşterii celulare şi creşterea organelor plantelor;
● cunoaşterea unor aspecte generale privind regenerarea şi polaritatea, fiziologia altoirii, dominanţa apicală şi corelaţiile la plante;
● cunoaşterea mişcărilor de orientare a creşterii plantelor, a importanţei lor biologice şi înţelegerea mecanismului de realizare a acestora;
● cunoaşterea şi înţelegerea proceselor care controlează tranziţia de la creşterea vegetativă, la dezvoltarea reproductivă;
● cunoaşterea factorilor externi şi interni care influenţează creşterea şi dezvoltarea plantelor; importanţa practică a acestor cunoştinţe;

REZUMAT

Ciclul ontogenetic al plantelor constă în parcurgerea fazelor de tinereţe, de maturitate şi senescenţă, care culminează cu moartea. Derularea acestor faze este influenţată de acţiunea a numeroşi factori externi şi interni (în special hormonii vegetali). Creşterea plantelor este un proces complex, morfologic, fiziologic şi biochimic, care constă în sporirea ireversibilă a numărului de celule, a volumului şi masei unei celule, a unui organ sau a întregii plante. Dezvoltarea include ansamblul modificărilor calitative, coordonate genetic, care conduc la parcurgerea fazelor ciclului ontogenetic şi la realizarea capacităţii de înmulţire a plantelor. Plantele au capacitatea de a forma noi organe post embrionar, datorită unor seturi de celule localizate la nivelul meristemelor. După unii specialişti se disting trei etape ale creşterii unei celule vegetale: creşterea embrionară, creşterea prin elongaţie şi diferenţierea celulară. Spre deosebire de animale, creşterea organelor plantelor nu este uniformă. Există anumite zone specializate, fiind descrise din acest punct de vedere două tipuri de creştere: creşterea primară şi creşterea secundară. Prin desfăşurarea proceselor de creştere în mod flexibil, plantele răspund condiţiilor mediului ambiant. Pentru plantele fixate în sol, principalele tipuri de mişcări de creştere sunt: tropismele, nastiile şi nutaţiile. Pe parcursul ontogenezei plantelor superioare, tranziţia de la creşterea vegetativă, la dezvoltarea reproductivă, respectiv tranziţia de la mugurele vegetativ, la mugure floral reprezintă o fază critică de maximă importanţă. Procesul poate fi divizat în 4 etape, care se desfăşoară într-o secvenţă temporală. Ca răspuns la factorii de mediu şi la semnalele endogene, planta comută de la creşterea vegetativă, la creşterea reproductivă. Procesul este controlat de un grup mare de gene, denumite gene ale timpului de înflorire. Semnalele diferitelor căi ale timpului de înflorire sunt integrate şi astfel se permite activarea unui grup mic de gene, denumite gene ale identităţii meristemului. Aceste gene determină identitatea florală (ex. LEAFY). Genele identităţii meristemului activează genele identităţii componentelor florale, în regiuni discrete ale florii (ex. modelul ABCE). Genele identităţii componentelor florale activează genele care determină diferitele tipuri de celule şi ţesuturi, care vor reprezenta cele patru componente florale. Creşterea şi dezvoltarea plantelor sunt procese influenţate de numeroşi factori interni şi externi.

9. 1. Aspecte generale privind creşterea şi dezvoltarea plantelor

Ciclul ontogenetic al plantei cuprinde următoarele *evenimente secvenţiale*: *germinarea/naşterea, stadiul juvenil, maturitatea, senescenţa şi moartea*.

Prin urmare, pe parcursul ciclului lor de viață, plantele trec prin câteva perioade de tranziţie ale dezvoltării (Bäurie și Dean, 2006) (*fig.9.1.*). Prima dintre acestea este germinarea, respectiv tranziția de la modul embrionar de creștere, la cel postembrionar (vezi Cap. 10). După germinare, plantula trece printr-o fază vegetativă juvenilă şi nu este capabilă să înflorească. Urmează tranziția către faza vegetativă adultă, când poate răspunde semnalelor inductive florale. Odată cu tranziția la înflorire, planta intră în faza reproductivă. Meioza marchează tranziția la faza gametofitică, iar fuziunea gameților în cursul fecundării începe faza embrionară a următoarei generații. Multe dintre aceste procese sunt reglate de factorii de mediu, cu scopul alinierii dezvoltării la condițiile favorabile de mediu, maximizând astfel succesul reproducerii.

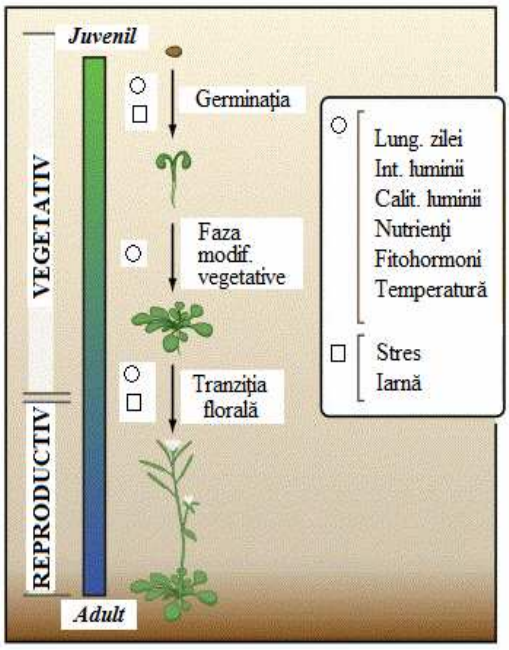


Fig. 9.1. Tranziţii de dezvoltare pe parcursul ciclului de viaţă al plantei

Creşterea *plantelor este un proces complex, morfologic, fiziologic şi biochimic, care constă în sporirea ireversibilă a numărului de celule, a volumului şi masei unei celule, a unui organ sau a întregii plante*.

Creşterea reprezintă una dintre cele mai importante proprietăţi fiziologice ale organismelor vii, inclusiv a plantelor. Astfel, creşterea rădăcinilor spre sursele de apă şi de substanţe minerale asigură aprovizionarea plantei cu substanţe nutritive. Mărirea suprafeţei frunzelor asigură captarea corespunzătoare a radiaţiilor solare. Exemple comune de creştere sunt: germinarea seminţei şi formarea plantulei, iniţierea florii, formarea fructului etc.

►Creşterea plantei cuprinsă între apariţia plantulei şi iniţierea florii este denumită ***creştere vegetativă***.

► Creşterea realizată în perioada dintre iniţierea florii şi devoltarea fructului este denumită ***creştere reproductivă***.

Creşterea vegetativă este urmată de creşterea reproductivă sau generativă.

Dezvoltarea *include ansamblul modificărilor calitative, coordonate genetic, care conduc la parcurgerea fazelor ciclului ontogenetic (tinereţe, maturitate şi senescenţă) şi la realizarea capacităţii de înmulţire a plantelor.*

Pe parcursul ontogenezei, creşterea este însoţită de **morfogeneză** şi **diferenţiere.** Prin urmare, derularea în timp a proceselor de creştere şi diferenţiere poate fi denumită în general dezvoltare, cunoscută fiind utilizarea noţiunilor de creştere şi dezvoltare a plantelor.

Morfogeneza reprezintă realizarea formei şi mărimii celulelor şi organelor.

Diferenţierea este procesul prin care celulele suferă modificări structurale şi biochimice, care le permit desfăşurarea unor funcţii specifice.

După numărul fazelor reproductive din cursul vieţii unei plante se disting două categorii de specii:

1) - ***specii monocarpice*** (caracterizate printr-o singură fază reproductivă)

La rândul lor, acestea pot fi:

▪ specii *efemere* (care parcurg ciclul ontogenetic în circa 5-6 săptămâni);
▪ specii *anuale*: care îşi completează ciclul de viaţă (sămânţă - până la floare) într-un singur sezon de creştere (multe plante cultivate);
▪ specii *bianuale*: care cresc vegetativ pe toată perioada sau o parte a perioadei unui sezon de creştere şi trăiesc şi în al doilea sezon de creştere, pe parcursul căruia ele înfloresc, formează seminţe şi mor;
▪ unele specii perene (ex. *Bambusa* înfloreşe după 50 de ani, apoi moare; *Agave americana*).

2) - ***specii policarpice*** (caracterizate prin mai multe faze reproductive)

În acest caz, două faze reproductive sunt separate de perioade vegetative:

▪ specii *perene*: care trăiesc câteva sau mai multe sezoane de creştere, pe parcursul cărora are loc atât creşterea vegetativă, cât şi înflorirea.

Speciile policarpice nu-şi transformă toate meristemele vegetative, în unele reproductive sau determinate. Speciile perene lemnoase (arbuşti şi pomi) pot folosi doar unii muguri axilari pentru formarea florilor, menţinând mugurii terminali vegetativi (sau mugurii terminali pot forma flori, în timp ce mugurii axilari rămân în stare vegetativă). Astfel de specii devin adesea reproductive numai după un număr de ani şi până atunci se spune că sunt în stadiu juvenil.

Cercetările din ultimii ani au contribuit la obținerea unor rezultate semnificative în privința înțelegerii tranzițiilor de dezvoltare a plantelor, în mod particular cele privitoare la tranziția de la stadiul juvenil, la cel adult și tranziția la înflorire. Factorii de mediu, precum: fotoperioada, intensitatea luminii și temperatura mediului ambiant, alături de fitohormonul acid giberelic influențează în mod semnificativ momentul tranziției de la faza vegetativă juvenilă, la faza vegetativă adultă.

9.2. Particularităţi ale creşterii plantelor

Diferenţa majoră dintre plante şi animale este aceea că plantele au capacitatea de a forma noi organe post embrionar. Acest potenţial este atribuit unor seturi de celule localizate la nivelul anumitor zone speciale, care conţin celule formate recent prin diviziune celulară, în cadrul **meristemului** (Sharma, și Fletcher, 2002).

În cursul embriogenezei sunt generate două populaţii de celule meristematice, denumite *meristeme primare*.

Meristemul apical al tulpinii (SAM) generează toate părţile aeriene ale plantei, în timp ce *meristemul apical al rădăcinii* (RAM) generează părţile subterane (*figurile 9.2.; 9.3.; 9.4.; 9.5.*).

SAM se formează în timpul dezvoltării embrionului şi calea specifică în care el este organizat permite plantei să producă organe pe parcursul vieţii. La plantele cu flori, SAM constă din trei domenii radiale distincte, în dependenţă cu poziţia relativă a celulelor (*fig. 9.3.*).

Zona centrală de celule din vârful SAM corespunde unei populaţii mici de celule pluripotente ale tulpinii, celule care se divid încet, pentru menţinerea unui rezervor de celule ale tulpinii (Steeves şi Sussex, 1989). Celulele din zona centrală sunt înconjurate de o regiune cu celule aflate într-o frecventă diviziune, numită zona periferică. Celulele din zona periferică sunt încorporate în organe laterale, pe flancurile meristemelor. În straturile profunde ale meristemului, sub zona centrală sunt coloane largi de celule vacuolizate din “zona rib”, care asigură celule pentru formarea măduvei, ce alcătuieşte ţesuturile interne ale meristemului. Celulele SAM pot fi de asemenea aranjate în straturi distincte, numite tunica şi corpus, pe baza modului lor de diviziune (Kaplan şi Cooke, 1997).

Meristemul apical al rădăcinii este situat sub scufie, deci subterminal şi se formează din meristemul embrionar, compus din celule iniţiale, trietajate şi derivatele lor.

O altă categorie o reprezintă *meristemele secundare* (cambiu şi felogen), care sunt neclare până la germinare şi zonele meristematice ale nodurilor la monocotiledonate şi ale frunzelor la plantele ierboase.

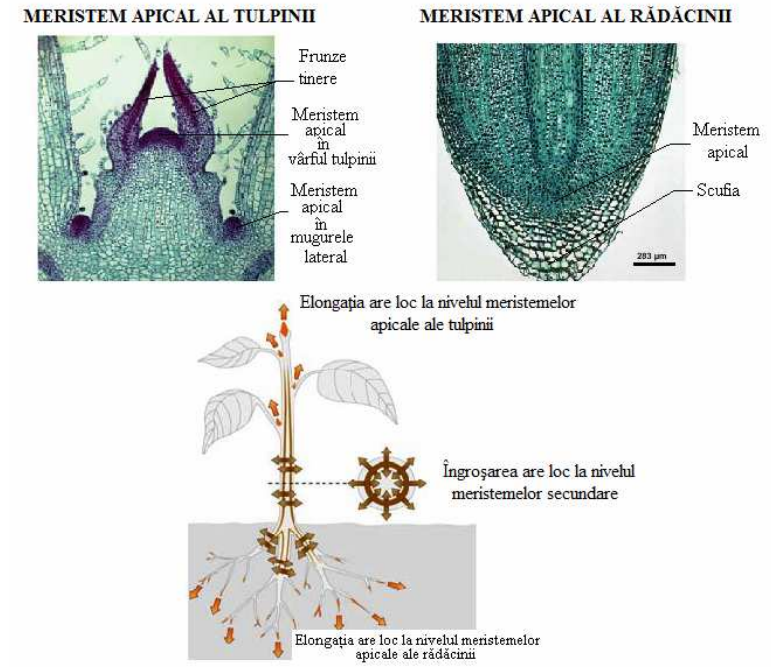

MERISTEM APICAL AL TULPINII
MERISTEM APICAL AL RĂDĂCINII
Frunze tinere
Meristem apical în vârful tulpinii
Meristem apical în mugurele lateral
Meristem apical
Scufia
Elongaţia are loc la nivelul meristemelor apicale ale tulpinii
Îngroşarea are loc la nivelul meristemelor secundare
Elongaţia are loc la nivelul meristemelor apicale ale rădăcinii

Fig. 9.2. Meristemele primare şi tipuri de creştere

Celulele meristematice sunt mici, izodiametrice, au pereţii celulari subţiri şi nucleul mare. Sunt bogate în citoplasmă, nu au vacuolă centrală şi în loc de cloroplaste conţin plastide foarte mici necolorate (proplastide). Printre celulele meristematice nu sunt spaţii intercelulare. Meristemele nu trec prin faza de senescenţă şi sunt considerate ca potenţial fără de moarte.

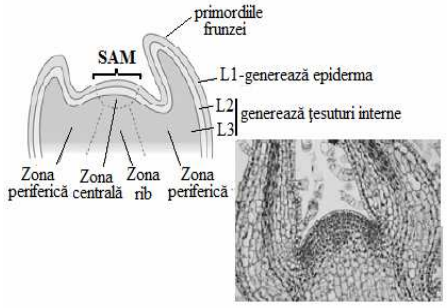


Fig. 9.3. Complexitatea meristemului apical al tulpinii (SAM)

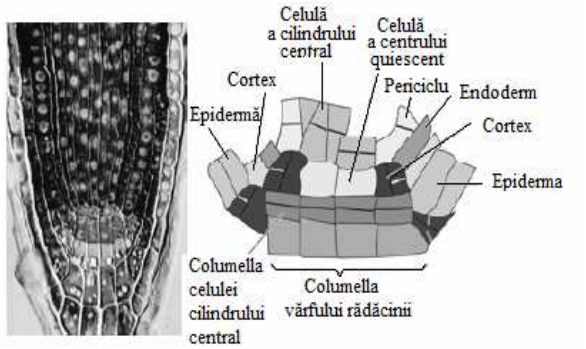


Fig. 9.4. Meristemul apical al rădăcinii (RAM)

Unele organe ale plantelor au o creştere determinată, respectiv cresc până la o anumită dimensiune, apoi creşterea încetează (frunze, flori, fructe), urmând eventual senescenţa şi moartea.

Alte structuri, precum tulpina vegetativă şi rădăcina au o creştere nedeterminată. Meristemele se reînnoiesc permanent. Dacă însă un meristem vegetativ nedeterminat devine reproductiv, adică începe să formeze floare, el devine determinat.

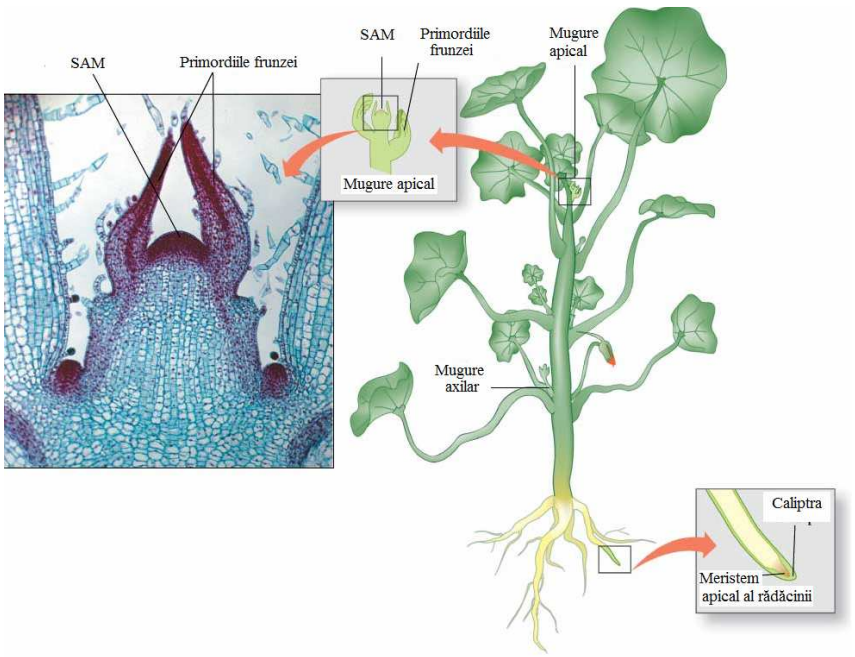


Fig.9.5. Localizarea meristemelor apicale

9.2.1. Etapele creşterii celulare

După unii specialişti se disting în principiu *trei etape ale creşterii unei celule vegetale:*

I. ► creşterea embrionară (diviziunea celulară sau mereza);
II. ► creşterea prin elongaţie (extensia, expansiunea celulară sau auxeza);
III. ► diferenţierea celulară.

Aceste etape nu sunt în mod strict separate în plantă. În unele ţesuturi ele decurg în paralel sau chiar se suprapun. Acelaşi lucru se poate petrece la celulele individuale. Celula în diviziune poate să-şi înceapă creşterea, în timp ce celula în creştere poate să diferenţieze.

9.2.1.1. Creşterea embrionară

Creşterea embrionară sau mereza este localizată în ţesuturile meristematice: apicale (ale tulpinii şi apexurile rădăcinii), intercalare (nodurile tulpinilor la ierburi) şi secundare (cambiu şi felogen).

Ciclul de viaţă al unei celule este determinat întâi de toate de ***ciclul celular*** (*fig. 9.6.*), respectiv ciclul diviziunilor mitotice ale nucleului, care constă în două faze principale :

▪ *interfaza* (necesară pentru dublarea numărului cromozomilor şi sporirea deci a conţinutului de ADN nuclear, sinteza de ARN şi a proteinelor; chiar dublarea volumului celulei);
▪ *mitoza* (diviziunea nucleului în doi nuclei fii).

Interfaza se divide în: *faza* G_1 (postmitotică sau presintetică), când întreaga celulă creşte (atât nucleul cât şi citoplasma), *faza S* (sintetică), când conţinutul de ADN este dublat şi *faza* G_2 (premitotică, postsintetică).

Mitoza la rândul ei presupune parcurgerea a 4 faze: *profaza, metafaza, anafaza şi telofaza*. Obiectivul acesteia este diviziunea cromatinei în două ansambluri de cromozomi identici, cât şi includerea fiecărei porţiuni într-un nucleu. S-a determinat că *fazele G* ar fi *periodele de repaus* ale celulei. Ele asigură punctele de control, care determină intrarea în următoarea fază şi dacă da, când anume.

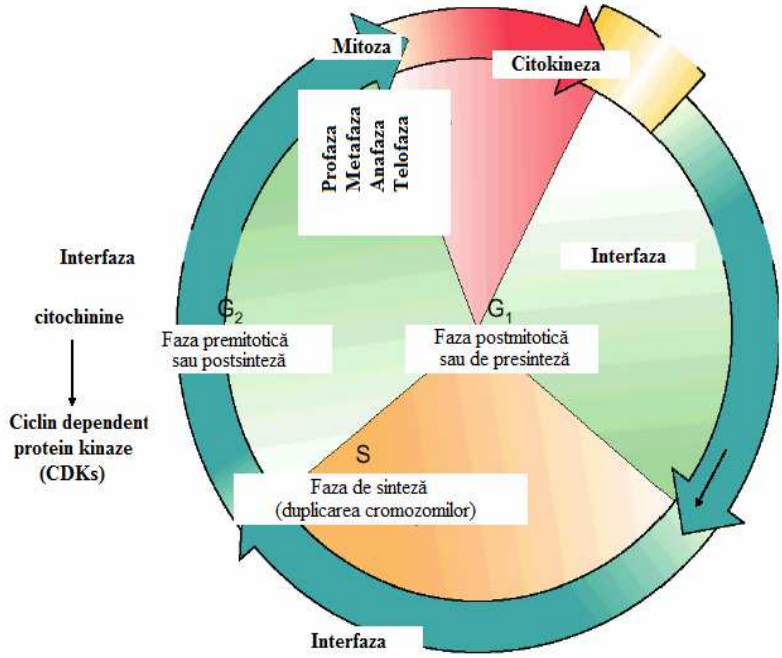


Fig. 9.6. Diagrama ciclului celular

Anumite elemente ale controlului diviziunii celulei sunt comune pentru procariote şi eucariote. Gradul conservării pe parcursul evoluţiei este surprinzător la eucariote. Parcurgerea fazelor ciclului celular la specii foarte diferite (precum cele de la drojdii şi oameni) este coordonată de o clasă comună de protein kinaze, a căror implicare în reglarea ciclului celular a fost studiată de Mironov şi al.(1999). Rolul major în acest control revine protein kinazelor dependente de ciclină (CDKs). Acestea pot fosforila proteinele responsabile pentru forţarea celulei să intre în următoarea fază a ciclului. Sunt descrise *două tipuri de cicline*: *cicline mitotice*, care controlează intrarea în faza mitotică a ciclului celular şi *cicline* G_1, care controlează ieşirea din faza G_1 şi intrarea în faza S.

De asemenea, Minorsky (2002) a precizat faptul că trigonelina (N-metil nicotinamida) s-a dovedit eficace în inducerea stopării fazei G_2 a ciclului celular, în apexurile rădăcinilor, la multe specii de plante. Deşi cu mult timp înainte, trigonelina a fost considerată ca un posibil hormon, ideea a fost foarte puţin acceptată. S-a demonstrat apoi că efectul unor astfel de substanţe nu se limitează doar la reglarea ciclului celular.

Derularea şi durata fazelor ciclului celular depinde de temperatură, precum şi de asigurarea cu apă, O_2, glucide etc. O importanţă deosebită prezintă **hormonii vegetali**. Sunt esenţiale *citochininele*, care stimulează diviziunea celulară. Se pare de asemenea că citochininele reglează translaţia proteinelor necesare pentru ciclul celular, afectând mai ales faza G_2. Totodată, *giberelinele* stimulează tranziţia de la faza G_1, la faza sintetică.

Planul de diviziune este variat.

Dacă noul perete celular care se formează între cele două celule fiice este situat într-un plan aproximativ paralel cu suprafaţa cea mai apropiată a plantei, *diviziunea* este numită *periclinală* (paralelă cu perimetrul). Dacă noul perete celular se formează perpendicular pe suprafaţa apropiată, diviziunea se numeşte *anticlinală*.

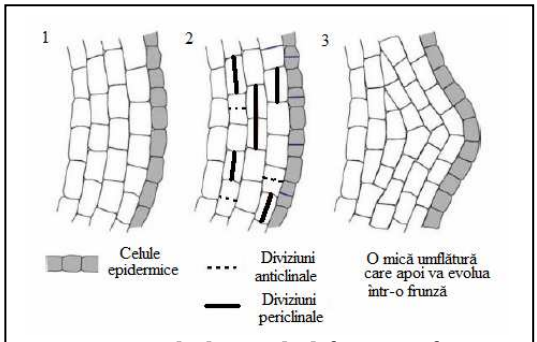


Fig. 9.7. Stadiul iniţial al formării frunzei la monocotiledonate şi dicotiledonate

Spre exemplu: stadiile iniţiale ale formării frunzelor la monocotiledonate şi dicotiledonate sunt similare, cu toate că există variaţii în ceea ce priveşte morfologia acestora. Începutul formării frunzei constă în diviziunea periclinală a celulelor din straturile de celule situate sub epidermă. După primele diviziuni periclinale, au loc şi diviziuni anticlinale. Se formează o mică umflătură, care apoi va evolua într-o frunză (*fig. 9.7.*).

În cazul cambiului au loc *două tipuri de diviziuni celulare*: *aditivă* şi *multiplicativă*. Diviziunea aditivă implică diviziunea periclinală a celulei cambiale primare iniţiale fusiforme, pentru a produce celulele mamă pentru xilem şi floem. Acestea se vor divide, pentru a produce celulele xilemului şi floemului. Diviziunea multiplicativă constă în diviziunea anticlinală a celulelor fusiforme iniţial şi asigură expansiunea circumferenţială a cambiului.

9.2.1.2. Creşterea prin elongaţie

După finalizarea ciclului diviziunii celulare, celulele pot să-şi continue creşterea, fără o ulterioară diviziune. În această perioadă are loc creşterea evidentă a volumului celulei şi intensificarea proceselor de sinteză a proteinelor structurale, a enzimelor, precum şi a componenţilor polizaharidici ai pereţilor celulari. Se realizează de asemenea diviziunea plastidelor şi mitocondriilor, precum şi unirea vacuolelor mici, într-o vacuolă mare centrală.

O caracteristică aparte este creşterea în lungime a celulelor (cum este cazul celulelor unor organe precum tulpina şi rădăcina), deci predominant într-o singură direcţie, drept pentru care etapa se denumeşte *elongaţie*. Creşterea dimensiunilor celulei în 2 sau 3 direcţii se denumşte *expansiune*.

În privinţa mecanismului elongaţiei au fost emise *diferite ipoteze*.

► În general însă, se acceptă că *elongaţia se datorează pe de o parte absorbţiei intense a apei şi generării presiunii de turgescenţă (creşterea pasivă), iar pe de altă parte creşterii peretelui celular (creşterea activă)*. Un rol deosebit revine hormonului auxină şi ca urmare, această etapă mai poartă denumirea de ***auxeză*** (*fig. 9.8.; fig.9.9.*).

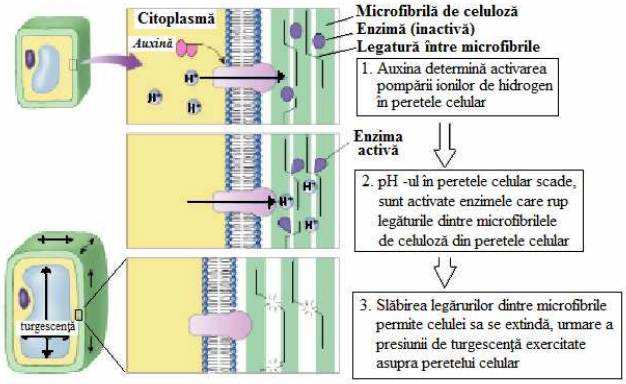

Citoplasmă
Auxină
Microfibrilă de celuloză
Enzimă (inactivă)
Legatură între microfibrile
1. Auxina determină activarea pompării ionilor de hidrogen în peretele celular
Enzima activă
2. pH -ul în peretele celular scade, sunt activate enzimele care rup legăturile dintre microfibrilele de celuloză din peretele celular
turgescenţă
3. Slăbirea legărurilor dintre microfibrile permite celulei sa se extindă, urmare a presiunii de turgescenţă exercitate asupra peretelui celular

Fig. 9.8. Reprezentare schematică a rolului auxinei în etapa extensiei celulare

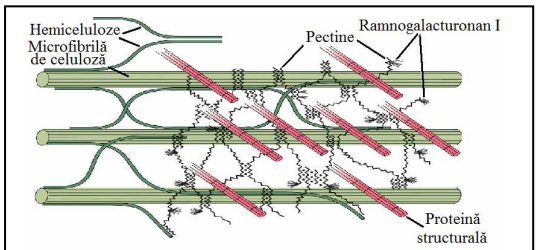


Fig. 9.9. Rolul auxinei la nivelul peretelui celular

Auxina stimulează H^+-ATP-azele din plasmalemă, care pompează protonii din citoplasmă înspre peretele celular şi se determină acidifierea apoplastului. În astfel de condiţii, este stimulată activitatea enzimelor hidrolitice, care modifică peretele celular. Cosgrove (1997) a izolat două proteine din hipocotilul plantelor de *Cucumis sativum*, proteine care potenţează creşterea acidă şi care au fost numite *expansine*. Pe lângă aceasta, deschiderea canalelor de intrare a K^+ permite asigurarea unui echilibru de sarcină transmembranal. De asemenea, este determinat un influx al apei şi se generează turgescenţa. Presiunea de turgescenţă creată determină creşterea suprafeţei pereţilor celulari. Totodată, prin activarea enzimelor hidrolitice sunt rupte legăturile dintre microfibrilele de celuloză, producându-se o relaxare a peretelui celular. Pentru stabilirea legăturilor dintre microfibrile şi deci pentru refacerea structurii peretelui celular la noile dimensiuni intervin sintetazele. Acestea catalizează reacţiile biochimice de integrare a noi substanţe şi refacerea legăturilor în zonele în care s-a produs extensia.

Polaritatea şi extensia celulară la plante

Polaritatea *este o proprietate a unei celule, a unui organ sau a plantei ca întreg, de a prezenta doi poli, unul bazal şi un altul apical.*

Plantele sunt structuri axiale, dar în acelaşi timp structuri polare. La nivel celular, stabilirea şi menţinerea polarităţii este o condiţie a controlului diviziunii şi extensiei celulei (*fig. 9.10.*).

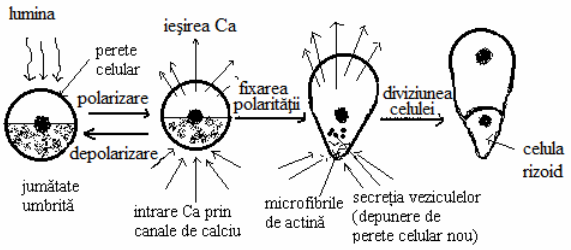


Fig. 9.10. Stabilirea şi menţinerea polarităţii la zigotul algei brune – *Fucus*

Faptul că plantele sunt structuri axiale şi totodată polare reprezintă caracteristici cheie ale dezvoltării plantelor. Polaritatea pare a fi un fenomen stabil.

În ceea ce priveşte " **extensia** " celulelor plantelor, sunt descrise *două mecanisme*:

▪ pentru perişori radiculari şi tuburi polinice este aşa numita " tip growth ";

La celulele cu " tip growth ", sinteza peretelui celular şi extensia celulei sunt în esenţă sinonime. Creşterea are loc prin depunerea de nou material constituient al peretelui celular, către "vârf".

▪ spre deosebire de acestea, creşterea celulelor la organismele multicelulare, în organe multicelulare implică extensia uniformă a unei mari suprafeţe a peretelui celular primar, ceea ce se denumeşte "creştere difuză" (*fig. 9.11.*). Deoarece rigiditatea pereţilor celulari limitează extensia protoplastului, mărimea şi forma celulelor individuale este determinată de proprietatea peretelui celular care le înconjoară.

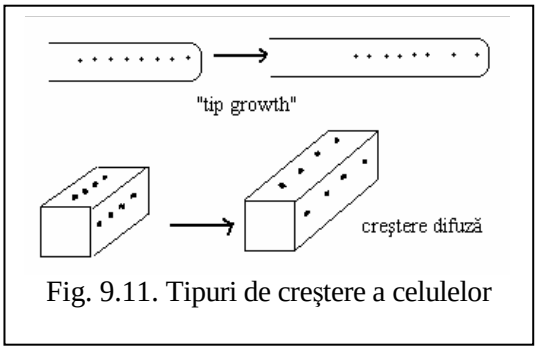


Fig. 9.11. Tipuri de creştere a celulelor

La celulele cu creştere difuză, extensia se crede a avea loc printr-o combinare a absorbţiei apei şi a a slăbirii peretelui celular şi respectiv a sintezei de perete celular, procese aflate sub control celular. De fapt, creşterea difuză se află frecvent şi sub control hormonal. Ca urmare a absorbţiei apei şi a creşterii presiunii de turgescenţă ce se direcţionează către exterior în toate direcţiile, peretele celular tinde de asemenea să se extindă în mod egal în toate direcţiile, datorită dispunerii randomizate a componentelor sale structurale. La unele celule însă, la care pereţii celulari au o aranjare anizotropă a microfibrilelor de celuloză (ex. la pereţii celulari ai celulelor de formă cilindrică, ca la tulpină şi rădăcină, cu dispunere transversală a microfibrilelor, pe axa lor lungă), extensia se realizează în unghiuri drepte, pe direcţia predominantă a microfibrilelor.

Prin urmare, unghiul sub care sunt depozitate microfibrilele de celuloză (sub controlul direct al microtubulilor) reprezintă o componentă de bază a creşterii plantei şi a morfogenezei.

9.2.1.3. Diferenţierea celulară

Diferenţierea *celulelor este procesul prin care o celulă fiică primeşte proprietăţi metabolice, structurale şi funcţionale distincte de cele ale celulei mamă. După unii specialişti este considerată ca o etapă a dezvoltării*, fiind determinată de modificări calitative. Diferenţierea celulelor este frecvent reversibilă, mai ales la ţesuturi detaşate şi menţinute în cultură. În *figura 9.12.* se redă modul de diferenţiere a celulelor de gardă ale complexului stomatic.

Celulele diferenţiază prin reglarea expresiei genelor şi nu prin alterarea genomului propriu. Fac excepţie celulele care-şi pierd nucleul, precum vasele liberiene la maturitate şi celulele moarte ale xilemului.

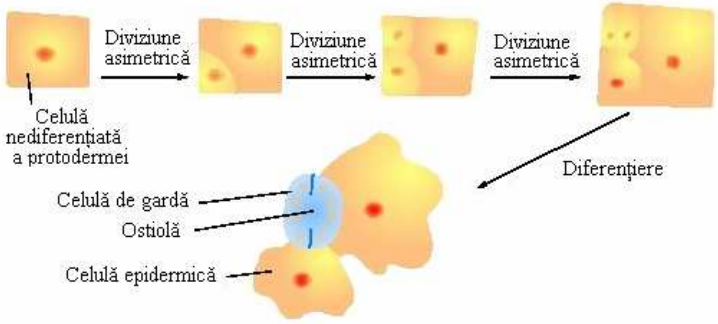


Fig. 9.12. Diferenţierea celulelor de gardă ale complexului stomatic

Identitatea celulelor la nivelul epidermei se corelează cu: conținutul de ADN nuclear; cu hormonii vegetali; interacțiunea dintre mezofil și epidermă; caracteristicile cuticulei; perceperea și distribuirea semnalelor ce reglează densitatea, distribuția și funcționarea stomatelor. Mai multe țesuturi ale plantei au potențialul de a influența dispunerea finală și numărul stomatelor pe suprafața frunzei (Bergmann, 2004). Studiile efectuate la planta model *A. thaliana* au condus la identificarea factorilor cheie de transcripţie şi a căilor semnal care controlează procesul de diferenţiere (Peterson şi al., 2010).

Prin urmare, celulele diferenţiate posedă în general informaţia genetică necesară pentru dezvoltarea unei plante întregi. Această proprietate este denumită **totipotenţă**. Asemenea celule dediferenţiază şi pot reiniţia diviziunea celulară. În condiţii corespunzătoare de hrană şi hormoni, celulele pot chiar să regenereaze întreaga plantă.

Fig. 9. 13. Regenerarea

Un exemplu fascinant de totipotenţă este cel al plantelor mici formate din frunzele de *Kalanchoe* (*fig. 9.13.*) (Costa și Shaw, 2007). Când frunzele sunt încă atașate de plantă, grupuri mici de celule localizate la nivelul sinusurilor marginilor frunzei proliferează și dau naștere unor plantule mici, cu tulpini și rădăcini. Plantulele se detașează spontan, cad pe sol, unde continuă să crească și să se extindă.

9.2.2. Particularităţi ale creşterii organelor plantelor

Creşterea plantelor se realizează graţie unor **zone specializate,** respectiv *zonele meristematice,* în care celulele se divid rapid.

Sunt descrise din acest punct de vedere două tipuri de creştere:

► *creşterea primară* - care se realizează la nivelul zonelor apicale ale tulpinii şi rădăcinii, precum şi la nivelul frunzelor şi mugurilor;

► *creşterea secundară* - respectiv creşterea în diametru a tulpinilor şi rădăcinilor.

Ambele tipuri de creştere sunt asociate cu *zonele meristematice,* în care celulele se divid rapid.

A) Creşterea rădăcinii

Primul organ care apare de obicei în timpul germinării seminţelor este radicula. La unele specii, precum *Pinus lambertiana*, diviziunea celulară are loc în radiculă, înainte ca germinarea să fie completă. La alte specii, precum porumb, salată, mitoza este redusă înainte ca radicula să penetreze tegumentul, iar elongaţia se datorează creşterii celulelor care s-au format în perioada dezvoltării embrionului, la nivelul plantei mamă.

Rădăcina principală se formează din radicula embrionului, iar rădăcinile secundare din periciclu. Celulele situate apical rezultă prin acţiunea unui meristem apical. Pe măsură ce ajung la maturitate, ele diferenţiază şi devin apte să perceapă stimulul reprezentat de forţa de gravitaţie şi să

secrete mucopolizaharide. Acestea le facilitează penetrarea în sol şi totodată protejează meristemul apical de stresul mecanic. În urma procesului de diviziune a celulelor meristemului apical iau naştere progenitorii tuturor celulelor rădăcinii. La nivelul zonei de elongaţie situată subapical (*fig.9.14.*) are loc extensia rapidă a celulelor, deşi ele pot continua să se dividă şi pe parcursul extensiei.

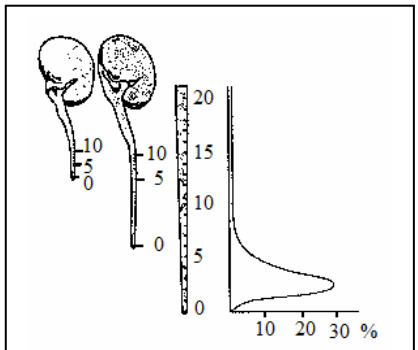


Fig. 9. 14. Elongaţia rădăcinii la mazăre

După ce diviziunea şi extensia s-au încheiat, celulele parcurg etapa de maturare, rezultând diferite tipuri de celule. Spre exemplu, cilindrul central al ţesutului vascular este înconjurat de endoderm, care la rândul său este înconjurat de straturi de celule corticale şi apoi rizodermice. Tot în această zonă se formează perişorii absorbanţi, care constituie un indiciu că extensia s-a finalizat. Rădăcinile laterale şi ramificaţiile se formează prin diviziunea celulară în stratul de periciclu, de la periferia cilindrului vascular. Ele cresc spre exterior, în unghiuri drepte faţă de ţesutul vascular, presează celulele cortexului şi penetrează prin rizodermă.

Pentru plantele lemnoase, pe parcursul unui sezon anual de vegetaţie se înregistrează două perioade de creştere maximă: una în aprilie-mai şi o a doua în septembrie-octombrie. De altfel, primăvara, creşterea rădăcinilor precede procesul de creştere a lăstarilor. Toamna, creşterea rădăcinilor este mai lentă şi se continuă până spre iarnă, mai ales în cazul rădăcinilor foarte profunde. În perioada de vară, ritmul de creştere este lent, corelat cu o umiditate mai redusă în sol.

B)Creşterea tulpinii primare

Meristemul apical al tulpinii (SAM) se formează la nivelul embrionului şi reprezintă locul de origine a noi frunze, ramuri şi componente florale. Structura de bază a acestuia este asemănătoare la numeroase plante superioare (angiosperme şi gimnosperme).

Tulpina se formează din tulpiniţa embrionului, iar ramurile iau naştere din mugurii laterali. Dacă mugurii principali şi cei dorminzi sunt distruşi, se pot forma ramuri noi, prin diviziunea celulelor cambiului, formându-se un con de creştere.

În raport cu partea axei embrionare care prezintă cea mai intensă alungire, se distinge creşterea hipogee şi creşterea epigee (vezi Cap.10). Creşterea tulpinii se realizează în lungime şi în grosime.

Creşterea în lungime

Spre deosebire de rădăcină, la care meristemul este situat subapical, la majoritatea plantelor superioare, creşterea în lungime a tulpinii se realizează prin intermediul ţesuturilor meristematice dispuse mai departe de vârf, chiar la câţiva cm (gimnosperme şi dicotiledonate), deci *este o creştere terminală*. Sunt însă şi plante la care intervine şi o *creştere intercalară*, datorită prezenţei ţesuturilor meristematice la baza fiecărui internod, cum este cazul la *Gramineae* şi *Equisetaceae*, sau la baza tulpinii (ca la *Amarylis*). Fiecare internod prezintă către partea superioară celule mai în vârstă şi celule mai tinere în apropierea bazei, ele fiind derivate din meristemul intercalar.

În ceea ce priveşte mugurii plantelor lemnoase, formarea şi diferenţierea au loc către sfârşitul verii şi toamna. Urmează o perioadă de dormanţă, până primăvara. Odată cu existenţa unor condiţii optime de creştere are loc trecerea lor la viaţa activă şi se formează lăstari, care cresc în special graţie elongaţiei celulelor. Desigur, desmuguritul la plantele pomicole spre exemplu are loc diferenţiat, în funcţie de condiţiile de mediu şi mai ales în funcţie de particularităţile specifice speciei.

Creşterea în grosime

Tulpina creşte în grosime ca urmare a activităţii ţesuturilor meristematice secundare (cambiul şi felogenul). La speciile lemnoase, datorită influenţei factorilor de mediu, are loc o creştere ritmică, atât din punct de vedere diurn, cât şi din punct de vedere sezonier. În general, creşterea în grosime începe la circa 3-18 zile după deschiderea mugurilor, formându-se primele

celule ale inelului de îngroşare anuală. Procesul durează 2-4 luni, în funcţie de specie şi de condiţiile de mediu. La pomi, creşterea în grosime a tulpinii este mai redusă în faza de tinereţe, urmând să devină mai intensă şi să atingă un maximum la maturitate, după care scade treptat, odată cu instalarea senescenţei.

C) Creşterea frunzelor

Semnul primar al dezvoltării frunzei, atât la gimnosperme cât şi la angiosperme constă de regulă în diviziuni ale unuia dintre cele trei straturi exterioare de celule, din apropierea apexului tulpinii. Dezvoltarea frunzelor implică numeroase interacţiuni genetice complexe, semnalizarea dintre diferite celule vecine sau dintre ţesuturi mai îndepărtate, ceea ce modifică evoluţia ulterioară a celulelor (Kidner, 2010). Frunzele se pot forma şi în absenţa meristemului apical, în cazul culturilor de celule. Prin urmare, frunzele se pot autoorganiza spontan într-un meristem, iar auxinele şi citochininele în anumite proporţii pot conduce la iniţierea frunzelor.

Diviziunea periclinală, urmată de creşterea celulelor fiice determină formarea unei protuberanţe, respectiv primordiul frunzei. Diviziunea anticlinală determină sporirea suprafeţei primordiului, ambele tipuri prezentând importanţă ulterior.

Primordiul frunzei nu se formează randomizat în jurul apexului tulpinii. *Fiecare specie se caracterizează printr-un anumit mod de aranjare denumit* **filotaxie**, rezultând astfel frunze opuse, alterne etc. (Chapms şi Perrz, 1987). Filotaxia se exprimă sub forma unei fracţii ordinare (3/8) în care numărătorul indică de câte ori trebuie înconjurată tulpina, pentru a junge la prima frunză de pe acelaşi rând, iar numitorul semnifică numărul de frunze care se regăsesc pe acest parcurs. De asemenea, perioada de timp dintre iniţierea a două primordii foliare este caracteristică pentru o anumită specie şi poartă denumirea de **plastocron**. Spre exemplu, la specia *Malus domestica*, soiul *Cox Orange Pippin* s-a determinat că în medie plastocronul este de 7 zile (Fulford, 1966).

Creşterea în suprafaţă a limbului foliar se realizează la plantele monocotiledonate prin intermediul meristemului bazal. Aceasta explică şi posibilitatea continuării creşterii la *Gramineae*, după cosire, respectiv permite otăvirea. La plantele dicotiledonate intervin meristemele situate la baza limbului, în vârf şi marginal. Predomină iniţial creşterea apicală, apoi creşterea bazală, laterală sau pe toată suprafaţa limbului. Adesea, creşterea frunzelor se realizează de manieră bidirecţională (creşterea în grosime fiind redusă, comparativ cu creşterea în suprafaţă). De altfel, forma limbului se modifică pe parcursul creşterii sale, ca urmare a vitezei diferite de creştere în diferitele sale porţiuni, a orientării frunzei şi a intensităţii relative în funcţie de timp.

Spre exemplu, la călţunaş (*Tropaeolum* sp.), limbul foarte tânăr este de formă dentată, urmând ca printr-o creştere uniformă sau izotropă (egală în toate direcţiile), precum la *Tropaeolum peltoforum*, forma "decupată" să se menţină şi în stadiu adult (*fig. 9.15.)*.

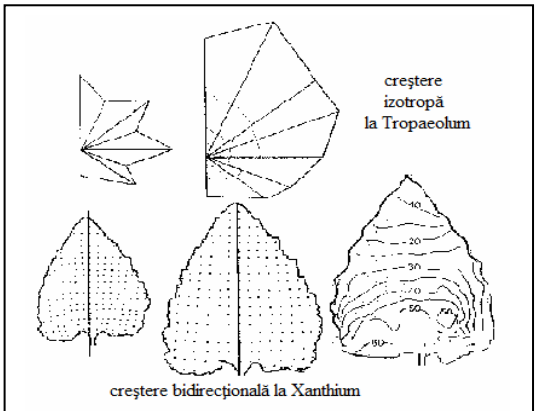


Fig. 9.15. Creşterea diferenţiată a frunzelor

La speciile care au frunzele perforate (ex. *Monstera deliciosa*), creşterea se realizează în anumite zone, ceea ce face să apară acele orificii cu suprafeţe diferite.

Creşterea în grosime se realizează prin activitatea ţesutului meristematic dispus sub epiderma superioară. De altfel, pe lângă meristemul marginal, frunzele au şi un meristem submarginal, abaxial, adaxial şi intercalar. Graţie acestor meristeme se formează variatele tipuri de frunze sau/şi se determină gofrarea lor.

Analizând dinamica creşterii funzelor se obţine o curbă sigmoidă, iar dimensiunile acestora depind de poziţia pe plantă. Frunzele apicale şi bazale au cele mai mici dimensiuni, în timp ce frunzele cu poziţie intermediară au dimensiunile cele mai mari.

Indicele suprafeţei foliare (LAI), ca raport între suprafaţa totală a funzelor şi suprafaţa proiecţiei lor pe sol reprezintă unul dintre principalii indicatori fiziologici sintetici privind numărul de frunze, suprafaţa acestora şi poziţia lor pe plantă. Spre exemplu, pentru o plantă ipotetică ale cărei frunze sunt dispuse orizontal, LAI are valoarea egală cu 1.

Stomatele, canalele şi pungile secretoare se formează din celule izolate, definitive ale epidermei şi ale parenchimului foliar.

Creşterea peţiolului se realizează graţie meristemelor dispuse pe toată întinderea sa, dar activitatea acestuia este mai intensă în zona din apropierea limbului foliar.

D) Creşterea florilor

Mugurii vegetativi competenţi să răspundă factorilor care determină inducţia floral, comută de la creşterea vegetativă, la creşterea reproductivă, respectiv are loc formarea primordiilor organelor florale şi se formează mugurii florali. Astfel, la *Vitis*, mugurii florali se formează în luna mai. Pentru arborii fructiferi, mugurii florali se formează în lunile iunie şi iulie. Pentru cele mai multe specii, organele florale sunt deja diferenţiate la începutul lunii septembrie, apoi se intră în perioada de dormanţă.

La cele mai multe angiosperme se formează flori bisexuate (perfecte), în timp ce la unele (spanac) florile sunt dioice (imperfecte), conţinând staminele (bărbătesc) şi pistilul (femeiesc) pe plante individuale diferite.

Speciile monoice (porumb, castravete) posedă flori cu stamine şi flori cu pistil situate în diferite poziţii de-a lungul aceleiaşi tulpini. Raportul dintre acestea determină producţia (ex. la castraveţi). Anteza (deschiderea florii) permite polenizarea şi în timp ce unele flori rămân deschise de la anteză, până la abscisie, altele se închid şi se deschid la anumite momente ale zilei, pentru câteva zile (lalea).

După anteză şi polenizare petalele se veştejesc, mor şi cad rapid. La *Portulaca grandifolia*, *Ipomea tricolor* deschiderea florii are loc dimineaţa şi veştejirea corolei se realizează după amiaza târziu. La alte specii (anumiţi trandafiri şi dahlia) se pierd petale încă turgescente.

E) Creşterea seminţelor şi fructelor

Sămânţa derivă din zigot, sac embrionar şi ovul, iar ovarul dă naştere fructului (pericarp).

Fructele formate numai cu participarea ovarului sunt reprezentate de păstaie la *Phaseolus*, silicvă la *Brassica*, capsulă la *Papaver*, drupă la *Prunus*, bacă la *Lycopersicon*, cariopsă la graminee. Fructele se pot forma şi prin diviziunea şi extensia celulelor altor componente florale. Receptaculul împreună cu ovarul fromează fructul poamă la *Malus*, *Pirus*, *Cydonia* etc.; bacă la *Ribes* şi achenă la *Helianthus*. Fructele compuse, precum soroza la *Morus* şi glomerula la *Beta vulgaris* se formează cu participarea învelişului floral.

Au loc o serie de modificări anatomice şi chimice. Zaharoza, glucoza şi fructoza se acumulează în ovule, până când nucleul endospermului devine înconjurat de pereţii celulari, după care concentraţia acestor glucide scade, pe măsura folosirii lor pentru formarea peretelui celular şi sinteza amidonului sau lipidelor. Glucidele amintite provin în mare parte din zaharoza transportată prin floem, în seminţele şi fructele tinere. În seminţe şi fructe imature, azotul este prezent sub formă de proteine, aminoacizi şi amide (glutamină şi asparagină). Pe măsură ce are loc depozitarea proteinelor în vezicule proteice scade concentraţia aminoacizilor şi amidelor.

O importanţă deosebită pentru longevitatea seminţei o reprezintă activitatea enzimelor şi a acizilor nucleici, în cursul dezvoltării seminţei. Pentru ca o sămânţă matură să germineze după o perioadă lungă de timp, trebuie să posede enzimele necesare germinării şi stabilizării plantulei, sau să posede informaţia genetică pentru sinteza acestora.

În ceea ce priveşte compoziţia chimică a părţilor edibile ale fructelor şi transformarea hidraţilor de carbon pe parcursul maturării, sunt numeroase date în literatura de specialitate. Intervin de asemenea modificări ale cloroplastelor (transformarea în cromoplaste bogate în carotenoizi), acumularea pigmenţilor antocianici, a componentelor aromei (esteri, aldehide, cetone, alcooli).

Prezenţa seminţelor are o importanţă deosebită pentru creşterea fructelor, cum ar fi de exemplu creşterea normală la căpşun. Extensia celulară este favorizată de hormonii vegetali, precum auxinele (Percy şi al., 1998), substanţe care sunt sintetizate în seminţe şi care apoi difuzează în „pulpa" fructului. De altfel, cercetările efectuate în domeniu au demonstrat corelaţia pozitivă care există între numărul de seminţe dintr-un fruct şi dimensiunea acestuia.

Producerea normală de fructe fără seminţe se denumeşte *dezvoltarea fructelor partenocarpic* şi este specifică fructelor care produc multe ovule imature (ex. banane, ananas etc.). Partenocarpia poate apărea din dezvoltarea ovarului fără polenizare (ex.banane), din creşterea fructelor stimulate sau polenizare, dar fără fecundare (anumite orhidee) sau din fertilizare, urmată de avortarea embrionilor (struguri, piersici, cireşe).

Pentru înţelegerea reproducerii sexuate, conceptul central este alternanţa de generaţii, în cadrul căreia o generaţie multicelulară diploidă alternează cu o generaţie multicelulară haploidă (*fig.9.16.*).

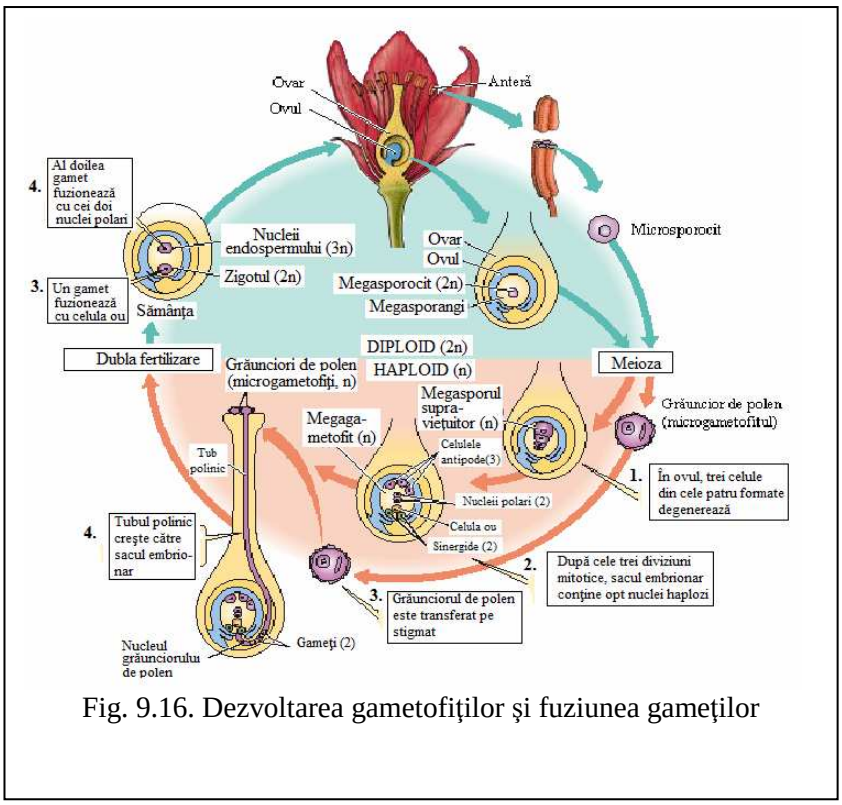


Fig. 9.16. Dezvoltarea gametofiţilor şi fuziunea gameţilor

Pentru angiosperme, generaţia sporofitică diploidă ocupă ponderea şi produce flori. Florile produc spori, care dezvoltă gametofiţi: gametofiţii femeli (megagametofiţii) denumiţi saci embrionari se dezvoltă în megasporangii, iar gametofiţii bărbăteşti (microgametofiţii) denumiţi grăunciori de polen se dezvoltă în microsporangii. La nivelul ovulului, o celulă (megasporocit) se divide meiotic, pentru a produce patru megaspori haploizi. Megasporul supravieţuitor (trei degenerează) urmează trei diviziuni mitotice şi se produc opt nuclei haploizi, în aceeaşi celulă (trei nuclei la un capăt, trei la celălat capăt şi doi situaţi la mijloc). Ulterior formării peretelui celular, evoluţia megasporofitului de formă eliptică va fi următoarea: la un capăt vor fi trei celule, celula ou (gametul femeiesc) şi două celule numite sinergide (care participă în mod indirect la procesul de fertilizare, prin atragerea şi acceptarea tubului polinic). La celălalt capăt al megagametofitului sunt trei celule antipode, care eventual degenerează. În zona centrală sunt doi nuclei polari.

Grăunciorul de polen constă din mai puţine celule şi nuclei, comparativ cu sacul embrionar. Formarea polenului începe de la o celulă microsporocit la nivelul anterelor, care se divide meiotic. Fiecare microspor haploid rezultat îşi formează un perete celular, urmează o diviziune mitotică înaintea deschiderii anterelor şi se eliberează cele două celule ale grăunciorului de polen, respectiv celula tub şi celula generativă. Evoluţia ulterioară a grăunciorului de polen este întârziată, până când polenul ajunge pe stigmat. Transferul polenului de la antere pe stigmat reprezintă procesul de *polenizare.*

Fructele (în special cele cărnoase) şi în general organele de rezervă se caracterizează printr-o *creştere* care se realizează cu o intensitate comparabilă, *tridimensională* în spaţiu. Diviziunile şi

extensiile celulelor nu sunt localizate în general de o manieră strictă, într-o anumită zonă a unui organ, ci sunt dispersate în toate părţile sale. Are loc o creştere difuză.

Se disting anumite etape de creştere: iniţial o creştere prin diviziune, apoi extensia (creşterea în volum) şi diferenţierea. Procesul de diviziune are durate diferite (la mere 3-4 săptămâni, la păr 6-8 săptămâni).

În mod sumar, creşterea fructelor poate fi reprezentată prin două curbe de creştere, diferite:

- curba sigmoidă, cum este cazul la mere, pere, tomate, castraveţi, căpşuni;
- curba dublu sigmoidă, cum este cazul la struguri, cireşe, piersici etc. (*fig.9.17.*).

În cel de-al doilea caz sunt două perioade de creştere rapidă, separate de o perioadă intermediară, cu creşteri foarte reduse sau absente.

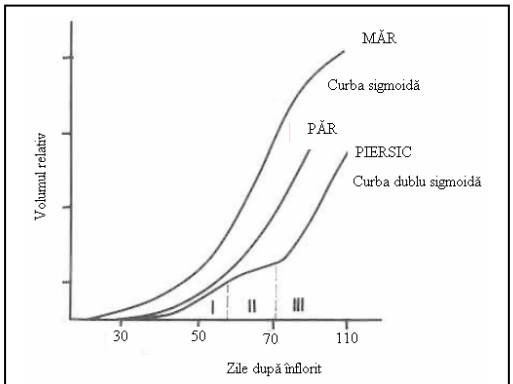


Fig. 9.17. Curba creşterii fructelor (după Jakson, 1975)

În primul stadiu al creşterii rapide, ovarul şi conţinutul său cresc rapid, exceptând embrionul şi endospermul. În stadiul 2, care este un platou, are loc creşterea embrionului şi endospermului, lignificarea endocarpului şi o mică creştere a peretelui ovarului. În stadiul 3, are loc creşterea rapidă a mezocarpului, ceea ce conduce la sporirea rapidă a mărimii fructului, urmată de maturare.

În horticultură, utilizarea substanţelor regulatoare de creştere a devenit de o deosebită importanţă, ca urmare a capacităţii lor de a influenţa mărimea, culoarea şi forma fructelor. S-a precizat că endospermul şi embrionul din seminţe produc auxină, care se deplasează în afară şi stimulează creşterea endospermului. Mărimea şi forma fructelor este strâns legată de numărul seminţelor şi de distribuţia lor în fruct. În acest context, cele mai multe cercetări, inclusiv cercetări la nivel molecular s-au efectuat la căpşun (Reddz şi Poovaiah, 1990).

Regenerarea – Fiziologia altoirii – Dominanţa apicală - Corelaţiile

Regenerarea şi polaritatea regenerării

Prin **regenerare** se înţelege *capacitatea unui organism de a deveni complet, din nou, după ce părţi din el au fost pierdute.*

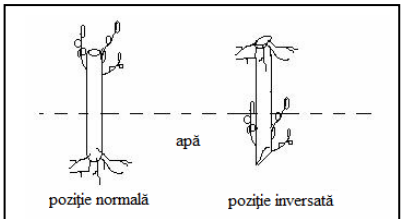


Fig. 9.18. Polaritatea regenerării la butaşi de tulpină

Astăzi, termenul de regenerare se foloseşte şi atunci când un organism ca întreg se dezvoltă din părţi izolate ale unui organism (ex. din butaşi) (*fig.9.18.*), inclusiv din celule somatice individuale. Se constată că inversând poziţia butaşilor (direcţia curentului de auxină rămânând constantă), locul de formare a rădăcinilor şi organelor aeriene nu se modifică.

Dezvoltarea armonioasă a unei plante implică pe lângă creşterea şi diferenţierea ţesuturilor existente şi plasarea la locul potrivit, coordonat, a noilor organe (ramuri şi rădăcini secundare). În anumite condiţii particulare, această organogeneză normală poate fi completată prin organogeneză suplimentară, provocând apariţia organelor *„de novo”*. *Organogeneza particulară stă la baza multiplicării vegetative*. Ca urmare, cunoaşterea condiţiilor necesare acestei organogeneze a permis dezvoltarea a *numeroase tehnici horticole*, devenite astăzi clasice. În paralel, progresele din domeniul culturilor de ţesuturi, regenerarea de plante întregi pornind de la fragmente de organe sau celule izolate este foarte mult dezvoltată *in vitro*.

Fiziologia altoirii

După Molisch, termenul ***transplantare*** descrie orice unire artificială şi ulterioara creştere împreună a unei părţi dintr-o plantă, cu o altă plantă. Cea mai importantă tehnică a transplantării este ***altoirea*** (*fig. 9.19.*), respectiv acea tehnică în care părţi dintr-o plantă cu muguri sunt separate şi transferate pe o altă plantă, devenind un tot. Tehnica altoirii are o importanţă deosebită în practică, pentru ameliorarea plantelor cultivate, iar din punct de vedere fiziologic prezintă importanţă teoretică.

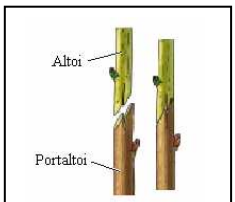


Fig. 9.19. Altoirea

Procesele care au loc în urma altoirii altoiului pe un portaltoi sunt următoarele: ambii parteneri formează un calus lemnos, respectiv la început un ţesut amorf, alcătuit din celule parenchimatice conectate lax. Acest calus se dezvoltă din cambiul partenerilor. Prin urmare, numai la plantele care posedă cambiu, altoirea se realizează cu succes. Ambele ţesuturi provenite cresc treptat împreună şi formează ţesuturi vasculare între altoi şi portaltoi. Deci, ambii parteneri contribuie la reuşita existenţei lor. Cu toate că se pot forma şi plasmodesme între parteneri, în general, numai substanţele originare din xilem şi floem (apă, ioni minerali, zaharoză, anumite substanţe secundare şi hormoni) sunt transportate de la un partener, la altul. Ambii parteneri se dezvoltă după propria lor informaţie genetică şi aceasta constituie de altfel baza tehnicii altoirii în horticultură.

Practic, trebuie acordată mare atenţie faptului că în general altoirea reuşeşte numai între specii foarte apropiate şi de regulă numai în interiorul familiei. Explicaţia poate fi aceea că, partenerii trebuie să se asemene în privinţa sistemelor lor hormonale, cât şi în privinţa metabolismului secundar. Se pot altoi de asemenea mai mulţi altoi, diferiţi genetic, pe acelaşi portaltoi. Dacă compatibilitatea se menţine, ei vor coopera de regulă, dar fiecare rămâne strict diferit ca sistem de dezvoltare.

Dominanţa apicală

Dominanţa apicală reprezintă *o corelaţie de creştere* a plantelor, respectiv *dominanţa mugurelui apical al tulpinii, asupra mugurilor laterali sau a apexului rădăcinii asupra rădăcinilor laterale.* Corelaţiile de creştere sunt interacţiuni fiziologice dintre organe şi ţesuturi, care contribuie la asigurarea unei integrităţi structurale armonioase a plantelor. Cele mai multe studii au fost efectuate asupra dominanţei apicale a mugurelui terminal al tulpinii, fiind mai accesibil experimentelor, dar şi pentru că prezintă un interes deosebit pentru cultivatorii de plante, cât şi pentru amelioratori.

Din punct de vedere practic, prezintă importanţă deosebită tehnicile care reduc dominanţa apicală şi care induc procesul de ramificare, pentru multe specii de plante cultivate (ex. la specii de pomi fructiferi sau la viţa de vie se aplică tăieri specifice). Sunt însă şi situaţii când se doreşte intensificarea dominanţei apicale (ex. tutun, bumbac, căpşun). Gradul în care diferite specii de plante sunt sub incidenţa dominanţei apicale este diferenţiat (înhibare completă a mugurilor laterali la *Pisum sativum*; lipsa dominanţei apicale la *Kochia scoparia*).

Referitor la **mecanismul dominanţei apicale** şi la factorii care o determină sunt numeroase date şi numeroase teorii, precum:

- teoria înhibiţiei directe de către auxină (Thimann şi Skoog, 1933. 1934);
- teoria nutriţională (Goebel, 1900);
- teoria înhibiţiei indirecte de către auxină (Snow, 1925) etc.); nu lipsiţi de atenţie sunt în general hormonii vegetali, dar şi alţi factori.

Studiind efectul de stimulare/înhibare a creşterii la muguri axilari prelevaţi de la plante de mazăre, în vârstă de 21 zile (ca sistem model pentru studiul eliberării mugurilor din dominanţa apicală, fără influenţa altor organe), Balla şi Prochazka (2000) au analizat expresia *PsDRM1* şi *PsDRM2*, ca markeri ai "dormanţei". Auxina are efect înhibitor asupra creşterii mugurilor axilari, în timp ce citochininele promovează creşterea acestora (*fig. 9.20.*).

Mecanismul creşterii mugurilor axilari depinde mai degrabă de raportul celor doi hormoni, decât de nivelul absolut al fiecăruia. De asemenea, câteva lucrări indică faptul că acidul abscisic

(ABA) prezent în mugurii axilari este corelat cu dormanţa mugurelui. Declinul acidului abscisic după decapitare precede creşterea mugurelui, în timp ce aplicarea auxinei pe secţiune reface nivelul ABA, la cel existent înaintea decapitării. Modelul a fost propus pentru mecanismul de control al dominanţei apicale de către hormonii vegetali.

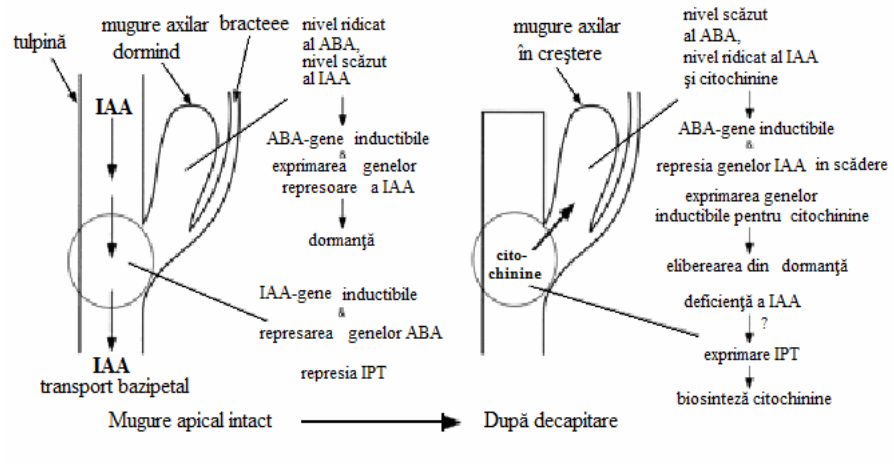


Fig. 9.20. Model al controlului dominanţei apicale

Controlul creşterii mugurilor axilari implică deci o reţea de semnale şi mecanisme feedback de reglaj, iar transportul bazipetal al auxinei reprezintă un exemplu în acest sens (*fig.9.21.*).

Strigolactonele, descrise anterior ca semnale de natură carotenoidică exudate de rădăcini, s-a descoperit ca sunt hormoni sau precursori ai hormonului (hormonilor) care înhibă de asemenea procesul de ramificare (Umehara şi al., 2008; Dun şi al., 2009; Rameau, 2010).

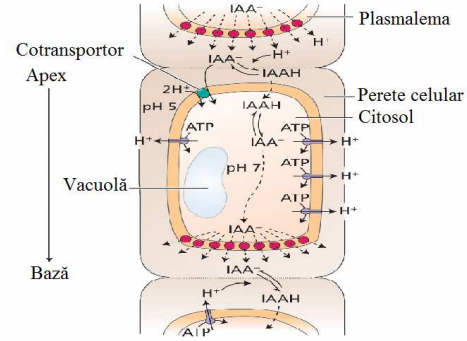


Fig. 9.21. Transportul polar, bazipetal al auxinei

9.2.3. Evaluarea creşterii plantelor

Fazele creşterii şi interpretarea lor

Conform cu aspectul curbei redată în *figura 9.22.*, la începutul creşterii se înregistrează o perioadă de latenţă (de adaptare la mediu, de sinteză a enzimelor specifice, de mobilizare a substanţelor de rezervă etc.), apoi se disting **trei faze principale:**

1) *faza de creştere accelerată (exponenţială sau logaritmică)*;

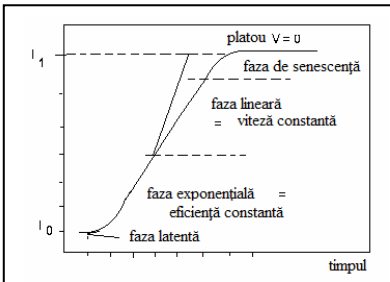


Fig. 9.22. Reprezentarea schematică a curbei fazelor creşterii

Viteza de creştere (V) sporeşte proporţional cu timpul şi eficienţa creşterii (R) este constantă.

$$R = \frac{1}{l} \cdot \frac{dl}{dt}$$

Pentru prima oară, indexul eficienţei sau indexul eficacităţii de creştere (R) în cursul fazei accelerate a fost formulat matematic de Bleckman, care a exprimat aceasta prin ecuaţia progresiilor exponenţiale. De aici derivă şi denumirea fazei – *faza exponenţială, sau faza logaritmică.*

2) *faza lineară*, care se caracterizează printr-o viteză constantă de creştere:

$$V = \frac{dl}{dt} = \text{constantă}$$

Ca durată de timp este variabilă, dar uneori ocupă cea mai mare parte a curbei (ex. la creşterea rădăcinilor, a tulpinilor).

3) *faza de încetinire a creşterii sau de senescenţă*, care se caracterizează prin diminuarea progresivă a creşterii, apoi o anulare a vitezei şi a eficienţei creşterii (a încorporării şi acumulării de noi materiale ca substanţe proprii). De altfel, în această fază intervin numeroşi factori limitativi (ex. consumarea substanţelor de rezervă, scăderea conţinutului de hormoni etc.) sau creşterea conţinutului unor factori înhibitori (ex. substanţe toxice, deşeuri).

Indicatori privind creşterea plantelor

Analiza creşterii presupune efectuarea de măsurători la plante individuale, incluzând: ratele creşterii relative şi absolute; rata asimilaţiei nete; suprafaţa foliară specifică; masa specifică a frunzelor; raportul S/R etc.

● *Rata creşterii relative* (RGR) indică sporirea masei uscate a materialului vegetal, după un interval de timp, în relaţie cu masa iniţială.

● *Raportul suprafeţei foliare* (LAR) reprezintă raportul dintre suprafaţa foliară şi total biomasă. Spre exemplu: floarea soarelui şi sfecla de zahăr au LAR cu valori mari, în timp ce la plante precum pinul, situaţia este opusă. Pinul are în schimb un RGR mai mare de zece ori.

● *Rata asimilaţiei nete* (NAR) reprezintă câştigul net de asimilate al unei plante, pe unitatea de suprafaţă foliară şi timp.

● *Indexul suprafeţei foliare* (LAI) reprezintă raportul dintre suprafaţa foliară şi suprafaţa solului ocupată de cultură. Se impune optimizarea strategiilor de producţie pentru maximizarea absorbţiei luminii, prin utilizarea unei densităţi corespunzătoare a frunzelor şi aranjarea spaţială pentru acoperirea suprafeţei solului şi promovarea expansiunii rapide a frunzelor. La cele mai multe plante cultivate, este necesar un LAI de 3-5, pentru maximizarea producerii de substanţă uscată. Culturile furajere pot necesita un LAI de 8-10.

● *Rata creşterii recoltei* (CGR) reprezintă câştigul în privinţa masei plantelor, pe unitatea de suprafaţă de teren şi pe unitatea de timp. Unele plante sunt mai eficiente decât altele şi totalul creşterii masei recoltei poate fi comparabil cu creşterea masei producţiei economice. Rezultă un alt indicator, denumit *coeficientul sau indexul de partiţie*, care reprezintă expresia eficienţei plantei de a transforma asimilatele, în producţie economică.

● *Durata suprafeţei foliare* (LAD) exprimă magnitudinea şi persistenţa suprafeţei frunzelor pe parcursul perioadei de creştere a plantelor. La grâu, s-a constatat că acest indicator se corelează semnificativ cu recolta.

● Un parametru important este raportul dintre creşterea tulpinii/ creşterea rădăcinii, cunoscut ca *raportul S/R*. Deşi este controlat genetic, raportul este puternic influenţat de factorii de mediu, precum deficit de apă, temperaturi extreme, compactare etc.

● *Indexul recoltei* reprezintă raportul dintre producţia economică/ producţia biologică * 100 şi reliefează deplasarea substanţei uscate către părţile recoltabile ale plantei. La cereale spre exemplu, creşterea producţiei de seminţe poate fi dată de creşterea indexului recoltei. Plantele nu produc mai multă substanţă uscată totală, ci partiţia poate fi mai pronunţată către producerea seminţelor.

9.3. Mişcările de creştere la plante

Mişcarea reprezintă o *proprietate fiziologică a materiei vii* (a protoplasmei vii în stare de hidrosol), *dar şi o însuşire a plantelor ca organisme*. Prin desfăşurarea proceselor de creştere în mod flexibil, plantele răspund condiţiilor mediului ambiant.

9.3.1. Factori implicaţi şi mecanismul general de realizare a mişcărilor

Una dintre particularităţile specifice de creştere a plantelor este orientarea lor în mediul ambiant, în spaţiu. Această capacitate prezintă o deosebită importanţă din punct de vedere biologic. Diferenţa în ceea ce priveşte mişcarea plantelor şi animalelor derivă din modul diferit de nutriţie al acestora. Plantele îşi sintetizează propria hrană, iar animalele depind de plante, pentru hrănirea directă sau indirectă. Prin urmare, în cazul animalelor, mişcarea este esenţială. Pe de altă parte, dacă în cazul animalelor are loc deplasarea dinspre locurile periculoase, improprii, către zone cu un climat propice, plantele îşi orientează creşterea spre factorii favorabili (surse de apă, lumină corespunzătoare, substanţe minerale etc.) sau se feresc („fug") de factorii nocivi.

Această proprietate are la bază o serie de caracteristici ale celulelor vii: sensibilitatea, excitabilitatea, adaptabilitatea etc. precum şi existenţa unor mecanisme specifice de realizare a mişcărilor.

Factorii responsabili pentru astfel de mişcări sunt de *origine endogenă* (acţionând şi în situaţia unor condiţii constante de mediu), fără a implica o stimulare a extensiei, ori de *origine exogenă* (constituindu-se ca un semnal care declanşează o modificare diferenţială de creştere), de cele mai multe ori având loc o curbură a unui organ al plantei.

Pentru realizarea mişcărilor este necesară acţiunea unui *stimul*, iar în vederea reacţiei de *răspuns* la stimul se impune parcurgerea unui **mecanism în lanţ** care include:

► stimuli

Stimulii sunt reprezentaţi în general de factori de mediu (temperatură, umiditate, lumină, forţa de gravitaţie, agenţi de natură mecanică sau electrică etc.). Pentru a fi sesizată de receptori, intensitatea stimulului trebuie să depăşească o anumită valoare minimă de prag.

► receptori

Receptorii sunt diferiţi în raport cu tipul stimulului. Spre exemplu, în cazul luminii, receptorii pot fi reprezentaţi de pigmenţii fotoreceptori. De precizat faptul că, doar anumite regiuni ale plantei sunt sensitive la stimuli şi nu întreaga plantă. Astfel de regiuni sunt vârful rădăcinii sau celulele sub apicale de la nivelul tulpinii. Stimulul este recepţionat la nivelul specific, urmând transmiterea unui semnal către zona de răspuns.

► sistem de transformare a informaţiei într-un semnal şi de transmitere ulterioară a semnalului

Transmiterea excitaţiei se poate realiza pe diferite căi: modificarea activităţii enzimatice, modificarea permeabilităţii membranelor plasmatice, modificarea potenţialului bioelectric, pe cale hormonală, cu participarea altor compuşi organici etc.

► răspunsul

Mecanismul de realizare a răspunsului variază în raport cu tipul de mişcare. Răspunsul va avea loc după ceva timp de la acţiunea stimulului, aşa numitul *timp de reacţie*. Durata inducţiei dată de stimul este denumită *timp de prezentare*. Cu cât este mai mare timpul de prezentare, cu atât se distruge capacitatea plantei de a răspunde la orice stimulare ulterioară. Timpul de prezentare este invers proporţional cu intensitatea stimulului. Intensitatea redusă a stimulului necesită un timp de prezentare mai lung, în vederea producerii unui răspuns, în timp ce o intensitate mare a stimulului va induce un răspuns într-un interval mai scurt de timp.

9.3.2. Clasificarea mişcărilor la plante

Pentru plantele fixate în sol, principalele tipuri de mişcări de creştere sunt:

I. tropisme
II. nastii
III. nutaţii

9.3.2.1. Tropisme

Tropismele sunt *mişcări de creştere diferenţiată (cu realizarea unei curburi) a organelor plantelor, în funcţie de direcţia de acţiune a unui factor extern*, precum: lumina (fototropism), forţa de gravitaţie (gravitropism), apă (higrotropism), răspuns la atingere (tigmotropism), anumite substanţe chimice (chimiotropism), răspuns direcţional către întuneric (skototropism), curent electric (electrotropism) etc.

Direcţia curburii este determinată de excitant şi tropismele pot fi pozitive (dacă are loc curbura către direcţia de acţiune a factorului inductiv) sau negative (dacă se realizează curbura în sens opus direcţiei de acţiune a stimulului extern). Sunt bine cunoscute mişcările gravitrop pozitive ale rădăcinii şi gravitrop negative ale tulpinii.

Fototropismul reprezintă *mişcarea de creştere orientată a organelor plantelor, în funcţie de direcţia de acţiune a fluxului luminii sau gradienţi luminoşi*. Lumina reprezintă una dintre condiţiile esenţiale pentru desfăşurarea fotosintezei. Pentru perceperea luminii, plantele şi-au dezvoltat o varietate de fotoreceptori, care absorb în principal lumina roşie şi albastră. Prezintă o importanţă biologică deosebită, având în vedere faptul că aşa numitul *mozaic al frunzelor* care apare spre exemplu în coroana pomilor permite o utilizare cât mai eficientă a energiei luminoase. Acest aspect este valabil pentru plantele crescute în teren, cât şi pentru cele de apartament, cele din urmă orientându-şi frunzele către fereastră.

Fototropismul a fost studiat de foarte mult timp (Darwin, 1880; Sachs, 1887) şi a fost localizată zona fototropic sensitivă (în vârful coleoptilului). Aceasta a condus la experimentele lui Went şi astfel a fost descoperită auxina. Ca *receptor* pentru răpunsurile fototropice au fost identificate pentru prima oară fototropinele, în plasmalema celulelor la plantulele etiolate de mazăre (Gallangher şi al., 1988). *Fototropinele* sunt protein kinaze activate de lumină şi implicate în realizarea gradienţilor diferenţiali ai auxinei, observaţi în cazul plantulelor iluminate cu lumină unilaterală albastră. De asemenea, importanţa auxinelor în răspunsul fototropic a fost în mod clar demonstrată prin studii genetice (Liscum şi Reed, 2002). Ulterior, s-a demonstrat că ele mediază şi deplasarea cloroplastelor, mişcarea stomatelor şi expansiunea frunzelor.

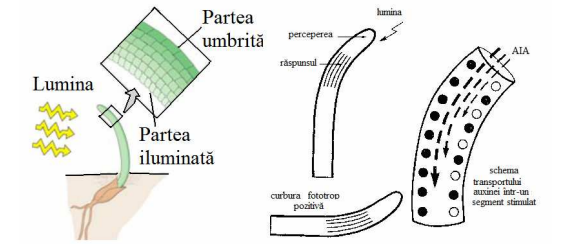


Fig. 9.23. Mişcarea fototrop pozitivă

În privinţa *transducţiei semnalului*, în 1926 ipoteza Cholodny a fost demonstrată de Went, privind faptul că iluminarea pe o parte a unui organ provoacă transportul auxinei către partea umbrită. În consecinţă, are loc înhibarea creşterii părţii iluminate. Distribuţia inegală a auxinei pe cele două părţi se crede a fi cauza răspunsului prin curbare, deşi, dacă s-a blocat deplasarea laterală a auxinei nu s-au obţinut diferenţe (*fig. 9.23.*). Din punct de vedere fiziologic, fototropismul poate fi diferenţiat de alte răspunsuri dependente de lumină (ex. nastii) pe baza a două criterii: răspunsul direcţional şi bazele celulare ale răspunsului de creştere.

Fig. 9.24. Heliotropismul

Un comportament interesant este „urmărirea soarelui” (*fig. 9.24.*) în cazul florii soarelui. Când capitulul este tânăr, urmăreşte soarele. După ce devine matur, se îndreaptă la răsăritul soarelui cu „faţa” către est şi rămâne în respectiva poziţie toată ziua.

Gravitropismul reprezintă *mişcarea de creştere a organelor plantelor sau chiar a unei singure celule, în funcţie de direcţia de acţiune a forţei de gravitaţie*. Asemenea fototropismului, prin aceste mişcări de creştere plantele utilizează mai bine spaţiul şi absorb mai bine CO_2 şi lumina solară.

Se disting:

● mişcări *gravitrop pozitive*

● mişcări *gavitrop negative*

Creşterea în poziţie verticală (a unei tulpini sau rădăcini) se denumeşte *ortogravitropism*. Creşterea orizontală se denumeşte *diagravitropism*, iar cea într-un anumit unghi ($0^0 < \alpha < 180^0$) este denumită *plagiotropism*. Organele care nu manifestă nici un răspuns la acţiunea forţei de gravitaţie se denumesc *agravitrope*. Dacă o plantă este plasată în poziţie orizontală, tulpina se va curba în sus (gravitrop negativ), iar rădăcina se curbează în jos (gravitrop pozitiv).

În privinţa mecanismului de realizare, începând din jurul anilor 1970 se consideră că percepţia forţei de gravitaţie se realizează de către **statolite** (plastide care conţin amidon- ex. amiloplaste). Celulele care conţin statolite sunt denumite **statocite** (Wilins, 1984). Actina, (componentă a citocheletului) se consideră a juca un rol major în perceperea şi transducţia gravitaţiei la rădăcinile plantelor (Minorsky, 2002).

Lanţul reacţiilor constă în:

▪ *detecţia* stimulului gravitaţiei – deplasarea statolitelor către bază (starea fizică);

▪ *percepţia* – statolitele blochează partea bazală a celulei, pentru veziculele Golgi (faza fiziologică);

▪ *reacţia* – veziculele sunt redirecţionate către partea superioară a celulei, ceea ce permite sporirea încorporării de material în peretele celular şi curbarea.

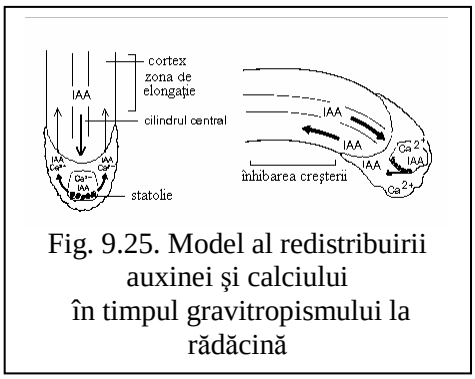


Fig. 9.25. Model al redistribuirii auxinei şi calciului în timpul gravitropismului la rădăcină

Teoria Cholodny-Went sugerează că la o plantulă dispusă orizontal, tulpina şi rădăcina, ca răspuns la forţa de gravitaţie acumulează auxină (IAA) pe partea bazală (inferioară). La tulpină, IAA favorizează creşterea părţii bazale, provocând curbarea în sus. S-a acceptat ideea că rădăcinile sunt mai sensibile la concentraţii supraoptimale de auxină, comparativ cu tulpina. Acumularea auxinei pe partea inferioară a rădăcinii înhibă creşterea în respectiva zonă, în timp ce partea superioară creşte normal (*fig. 9.25.*).

Astfel, auxina sintetizată în partea supraterană este transportată către rădăcină, prin intermediul sistemului fascicular de transport. În cazul rădăcinii poziţionate vertical, statolitele din vârful rădăcinii se depozitează la baza celulelor, iar auxina şi ionii de calciu transportaţi acropetal în rădăcină sunt redistribuiţi în mod simetric, către părţile laterale. Auxina este apoi transportată către zona de elongaţie, prin celulele cortexului şi favorizează creşterea celulelor prin elongaţie. Dacă rădăcina este poziţionată orizontal, statolitele se orientează către baza celulelor. Se induce transportul polar al auxinei şi calciului, înspre jumătatea inferioară a vârfului rădăcinii. Urmează transportul bazipetal prin cortex.

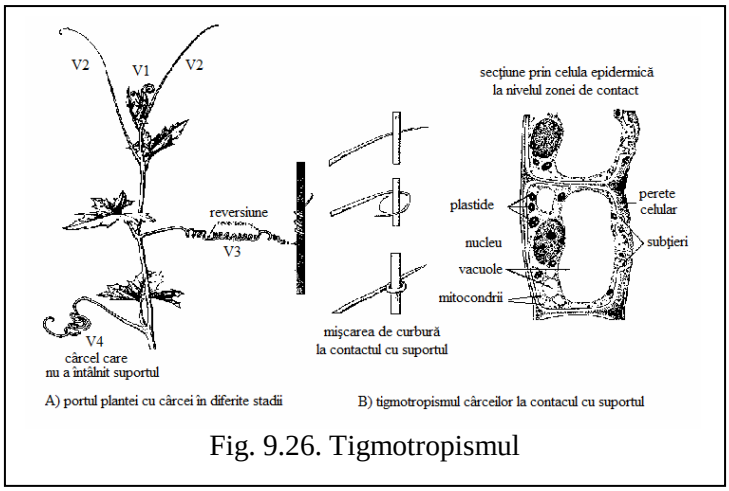


Fig. 9.26. Tigmotropismul

Tigmotropismul reprezintă *mişcarea de răpuns la atingere*. Un exemplu comun este tigmotropismul cârceilor la contactul cu un suport (*fig. 9.26.*).

Chimiotropismul este *fenomenul de creştere a organelor plantelor, ca răspuns la acţiunea substanţelor chimice* (ex. mişcarea de creştere a tubului polenic către glucide; mişcarea tentaculelor la *Drosera*, ca răspuns la substanţe organice şi anorganice).

Higrotropismul este *mişcarea de răspuns a unui organ al plantei la factorul apă*. Rădăcinile sunt higrotrop pozitive. De asemenea, tuburile polenice cresc higrotrop pozitiv.

9.3.2.2. Nastii

Nastiile *sunt mişcări de curbare reversibilă a organelor plantelor. Direcţia de realizare a curburii este impusă de morfologia şi structura organului plantei şi se produce ca răspuns la un stimul extern*. Comparativ cu tropismele, care presupun dirijarea către un factor extern, la nastii, mişcarea este orientată în raport cu planta şi nu este controlată de direcţia factorului cauzal.

Fig. 9.27. *Albizzia*

Factorii inductivi pot fi reprezentaţi de temperatură (**termonastii**) sau lumină (**fotonastii**).

Nictinastiile sunt observate de obicei la plante din fam. *Fabaceae* (ex. *Robinia pseudocacia*), fam. *Mimosaceae* (ex. *Albizzia julibrissin)* sau din fam. *Oxalidaceae* (ex. *Oxalis)* şi sunt reglate de ceasul biologic, cu ciclul de circa 24 ore (*fig.9.27.*) (*fig.9.28.*) Este cunoscut aşa numitul *somn al frunzelor de salcâm*, fiind descris rolul celulelor de la nivelul pulvinulelor, respectiv celule care devin turgescente în timpul deschiderii frunzelor (celule extensoare) şi cele care devin flasce (celule flexoare).

Fig. 9.28. Nictinastii la *Oxalis*

Fig. 9.29. Crocus (Grădina Botanică U.S.A.M.V.B)

Termonastiile la florile de *Tulipa gesneriana* şi *Crocus vernus* (care sunt foarte sensibile la temperatură) determină răspunsul repetat, prin deschiderea şi închiderea periantului. Mişcarea se datorează creşterii inegale şi asincrone a celulelor situate pe faţa internă şi externă a bazei petalelor. Aşa se explică şi faptul că florile de primăvară, care la majoritatea speciilor sunt termonastice rămân închise în cursul zilelor reci (*fig. 9.29.*) Descoperirea ceasului biologic s-a bazat pe observaţiile mişcărilor nictinastice la *Mimosa pudica* (Bünning, 1973). Aceste mişcări are au loc în mod natural, dar intervin şi aşa numitele *tigmonastii* în cazul unor efecte externe (atingere, încălzire, răcire rapidă, stimul electric etc.) (*fig.9.30.*).

Chiar dacă este stimulată doar o singură frunză, stimulul se transmite în plantă (probabil pe baza a două mecanime: electric şi chimic), fiind influenţate şi celelalte frunze. Din punct de vedere a importanţei pentru plantă, se pare că prin lăsarea în jos a frunzelor sunt îndepărtate insectele, înainte ca acestea să atace frunzele.

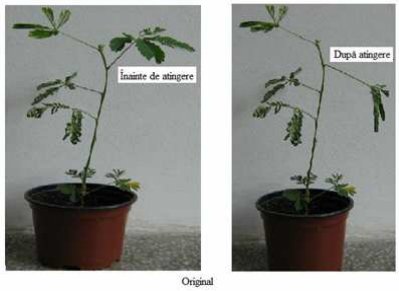


Fig. 9. 30. Răspunsul la atingere la *Mimosa pudica*

Referitor la răspunsul chimic elicitat de potenţialul de acţiune (modificările de voltaj), Rica (1916) (cercetător italian) a precizat că răspunsul este dat de o substanţă care circulă prin xilem, odată cu curentul de transpiraţie. Substanţa a fost numită formal factorul lui Rica şi ulterior a fost denumită turgorin.

Studiile efectuate de Schildknecht (1983, 1984) asupra compuşilor care activează pulvinulii frunzelor de *Mimosa* şi *Acacia karroo* (ultima nefiind sensibilă la atingere, dar exprimă mişcări nictinastice) au demonstrat că factorii periodici care intervin in mişcarea frunzelor (PLMFs) la *Acacia* par a fi β-glucozide ale acidului galic. S-a sugerat

apoi că aceşti compuşi formează o nouă clasă de hormoni vegetali şi au fost numiţi *turgorine*, deoarece aceştia acţionează asupra turgescenţei celulelor pulvinulilor. Din punct de vedere a mecanismului de realizare, aceste mişcări pot fi determinate de modificări de turgescenţă şi modificări ale elasticităţii pereţilor celulari, fiind prin urmare reversibile. Pot fi de asemenea datorate diferenţei de creştere (extensie celulară) a celulelor unui organ.

Deşi s-a crezut că turgorinele controlează astfel de mişcări, cercetările efectuate de Ueda şi al.(2001) au demonstrat existenţa unor substanţe care controlează deschiderea, respectiv a altor substanţe care controlează închiderea frunzelor, la câteva plante nictinastice (*tabelul 9.1.*).

Tabelul 9.1.

Factori ai mişcării frunzelor în plantele nictinastice

Specia	Substanţe implicate în închiderea frunzelor	Substanţe implicate în deschiderea frunzelor
Mimosa pudica	Potasiu 5-O-ß-gluco-piranozilgentisat	Mimopudin
Albizzia julibrissin	Potasiu ß-D-glucopiranozil 12-hidroxi jasmonat	Cis-p-cumaroilagmantin
Cassia mimosoides	Potasiu chelidonat	Calciu 4-O- ß-o- glucopiranozil cis-cumarat
Lespedeza cuneata	Potasiu D-idarat	Potasiu lespedezat

Prin urmare, controlul chimic al nictinastiilor poate fi reprezentat asemenea *figurii 9.31*.

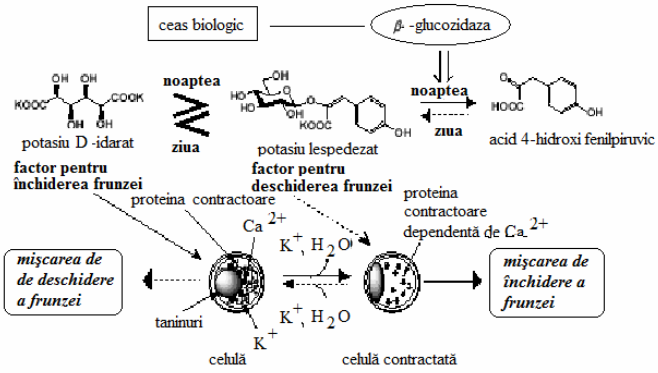


Fig. 9.31. Controlul chimic al nictinastiei la *Lespedeza cuneata*

Pulvinulii sunt organe care reglează poziţia frunzelor şi astfel intervin în activitatea fotosintetică a multor familii de angiosperme, în special *Fabaceae*. Majoritatea informaţiilor cu privire la mişcări se bazează pe modificările de formă şi mărime a celulelor parenchimatice corticale (celulelor motoare) cauzate de modificarea turgescenţei, ca răspuns la fluxurile K şi Cl, precum şi a altor ioni. Din acest considerent, mişcarea frunzelor este similară în multe privinţe cu mişcarea stomatelor. Cercetările indică faptul că pe lângă modificările turgescenţei celulelor motoare, mişcările pulvinulului sunt date de alterarea configuraţiei microfilamentelor de actină. Mai mult, este evident că nu doar celulele corticale, ci şi aparatul vascular al pulvinulilor participă la redistribuirea ionilor şi la transmiterea stimulului, pe parcursul mişcării frunzei (Rodrigues şi Machadoa, 2008).

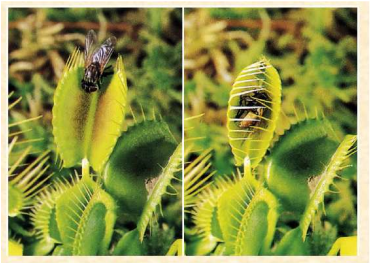


Fig. 9.32. Tigmonastii la plante carnivore

De asemenea, la plantele carnivore au loc tigmonastii (*fig. 9.32.*).

9.3.2.3. Nutaţii

Nutaţiile sunt *mişcări autonome ale unui organ al plantei (independente de factori externi), care se înclină periodic, în diferite poziţii în spaţiu. De fiecare dată, zona de creştere prezintă o curbură sau nutaţie, ca urmare a unei extensii inegale a celulelor situate la extremităţile opuse ale orgaului respectiv.*

Mişcarea se realizează dependent de specie, organ, vârstă şi condiţii de creştere, fiind caracterizată de o anumită formă, amplitudine (ex. la plantele volubile au loc mişcări foarte ample), sens, perioadă şi viteză. Astfel, prin nutaţie, după germinarea seminţei, cotiledoanele de fasole tocmai ieşite din sol efectuează o mişcare bruscă, din poziţia cu vârful în jos, iau poziţia orizontală şi se deschid complet.

Sunt descrise două tipuri de nutaţii:

● *nutaţie plană*: când vârful tulpinii oscilează în jurul unui plan;

● *nutaţie circulară* (*circumnutaţie*): când vârful tulpinii descrie un cerc sau elipsă în jurul verticalei (*fig. 9.33.*).

Circumnutaţia stă la originea înfăşurării tulpinilor volubile în jurul unui suport (deşi mişcarea popriu- zisă se realizează prin tigmotropism). Dacă lipseşte suportul, tulpina creşte sub formă helicoidală şi pentru că nu se ataşează de un suport, se încovoaie. Dacă există un suport, tulpina se încolăceşte de la dreapta la stânga (fasole, zorele, volbură). Asemenea mişcări sunt foarte evidente şi la cârcei, la care încolăcirea este de asemenea autonomă şi se poate realiza fără vreun contact cu un suport, chiar la începutul creşterii lor.

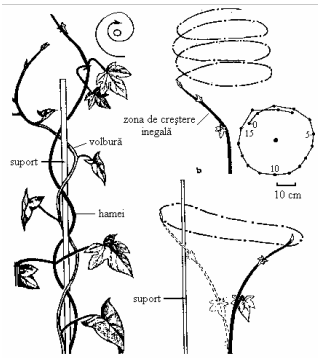


Fig. 9.33. Circumnutaţii la plantele volubile în timpul creşterii

9.4. Controlul formării florilor

Pe parcursul ontogenezei plantelor superioare, o fază critică de maximă importanţă este *tranziţia de la creşterea vegetativă, la dezvoltarea reproductivă*, respectiv tranziţia de la mugurele vegetativ, la mugure floral. Pentru unele plante, această tranziţie marchează sfârşitul creşterii vegetative. În cazul altora, creşterea poate însoţi înflorirea, ori încetează după ce înflorirea este completă.

Un prim stadiu al fazei reproductive este *iniţierea florii*, respectiv modificări fiziologice interne în cadrul meristemului, care preced orice schimbare morfologică. Reorientarea mugurelui vegetativ, de la formarea structurilor frunzei, către formarea componentelor florale poate fi explicată pe baza ipotezei că anumite gene, denumite **gene ale înfloritului** sunt activate acum în mod secvenţial. ***Inducţia florală*** *reprezintă o manifestare a realizărilor genetice şi a particularităţilor fiziologice ale plantei, în condiţii corespunzătoare de mediu, în esenţă cele privitoare la temperatură şi durata zilnică de iluminare (fotoperioadă).*

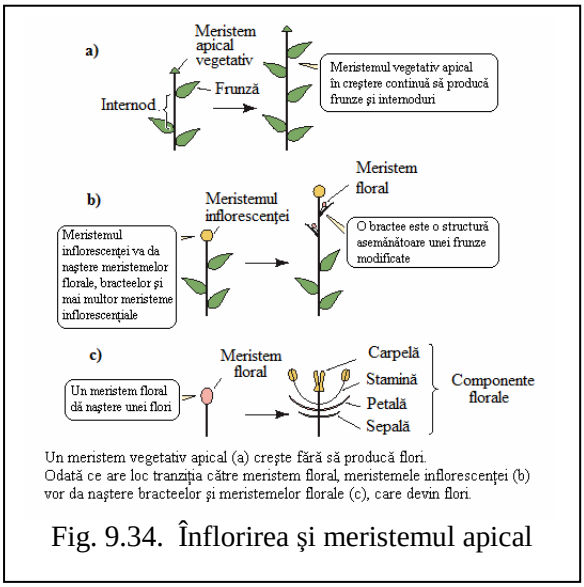
Inducţia florală la pomii fructiferi maturi diferă considerabil de procesele similare la plantele anuale/bianuale. În timp ce la ultimele inducţia florală este mai ales un proces calitativ, reglat genetic, în cazul pomilor, rolul predominant îl au semnalele interorgane (corelative), ceea ce face ca procesele inducţiei florale să fie mai ales cantitative. Astfel de semnale integrează numeroşi factori de mediu şi practici horticole. Se formează un mesaj, care în cele din urmă induce o creştere nedeterminată a meristemului vegetativ, care va comuta fie la modificări către formarea unui meristem generativ sau pentru a-l menţine în stadiu vegetativ (Bangerth, 2006).

Primul semn vizibil al tranziţiei către înflorire poate fi o modificare a unuia sau a mai multor meristeme apicale în cadrul tulpinii. Pe parcursul creşterii vegetative, un meristem apical continuă să producă frunze, muguri laterali şi internoduri (*fig. 9.34. a*). Florile pot apărea singure sau grupate, constituind o inflorescenţă. Prin urmare, dacă un meristem vegetativ apical devine un meristem inflorescenţial, el încetează a mai produce frunze, muguri laterali şi internoduri. Va produce alte structuri: structuri unice, asemănătoare unor frunze, denumite bractee, precum şi noi meristeme, în unghiurile dintre bractee şi internoduri (*fig. 9.34. b*). Aceste meristeme noi pot fi de asemenea meristeme inflorescenţiale, ori pot fi meristeme florale, fiecare dintre ele dând naştere unei flori. La rândul său, un meristem floral tipic produce patru structuri consecutive, dispuse în cercuri concentrice sau spirale: sepale, petale, stamine şi carpele, separate prin internoduri foarte scurte, menţinând floarea compactă (*fig. 9.34.c*). Spre deosebire de meristemele vegetative apicale

şi unele meristeme inflorescenţiale, meristemele florale sunt responsabile pentru creşterea determinată, limitând creşterea florii la o dimensiune şi formă particulară.

Prin urmare, meristemele florale se formează din marginile laterale ale SAM. Din punct de vedere structural, meristemul apical al tulpinii şi meristemul floral prezintă similarităţi, căci ambele conţin un rezervor de celule la nivelul apexului, care contribuie la organogeneza flancurilor.

Ca rezultat, ambele tipuri de meristeme împart un număr de gene reglatoare şi mecanisme pentru dezvoltare şi menţinere. În ciuda acestor similarităţi, meristemele tulpinale şi florale diferă în anumite privinţe. Una dintre diferenţe este tipul şi modul de aranjare a formaţiunilor laterale pe care le produc. În general, SAM formează frunze şi meristemele asociate lor într-o aranjare în spirală, în timp ce meristemele florale generează sepale, petale, stamine şi carpele, în cercuri concentrice. O altă diferenţă majoră este că SAM este nedeterminat şi creşte nedefinit, în timp ce meristemul floral este determinat şi creşterea se termină odată ce toate componentele florale au fost formate (Sharma şi Fletcher, 2002). Meristemele florale se dezvoltă din flancurile SAM, similar primordiilor frunzei, dar cu destinaţii diferite.



Un meristem vegetativ apical (a) creşte fără să producă flori. Odată ce are loc tranziţia către meristem floral, meristemele inflorescenţei (b) vor da naştere bracteelor şi meristemelor florale (c), care devin flori.

Fig. 9.34. Înflorirea şi meristemul apical

9.4.1. Principii de bază ale formării florilor

Elucidarea mecanismelor de bază, genetice şi moleculare ale formării florilor a fost posibilă în urma cercetărilor efectuate la trei specii dicotiledonate: *Antirrhinum majus*, *Arabidopsis thaliana* şi *Petunia hybrida*.

Jack (2004) a prezentat un studiu bibliografic pe această temă, atenţia fiind concentrată pe rezultatele cercetărilor efectuate pe planta *Arabidopsis*, corespunzător a *trei direcţii de studiu*:

► integrarea semnalelor inducţiei florale, de către un grup mic de integratori florali;
► activarea genelor identităţii meristemului floral, de către genele identităţii meristemului floral;
► interacţiunile dintre genele identităţii componentelor florale, în special cele din clasele A şi C.

Un prim principiu de bază în domeniul formării florii a fost **modelul ABC** iniţiat în anii 1990 şi bazat pe experimente genetice efectuate la *Antirrhinum* şi *Arabidopsis*. Corespunzător celor 4 tipuri de componente florale dispuse în serii concentrice, de la exterior către interior (sepale, petale, stamine şi carpele), modelul ABC stabileşte că trei activităţi, A, B şi C determină specificitatea componentelor florale, într-o manieră combinatorie. În ultimii ani, a devenit evident că exista un al patrulea set de gene – Sepallata (*SEP*) conform experimentelor efectuate la petunia şi tomate. Modelul ABC a fost revizuit, genele *SEP* au fost încadrate în clasa E şi a rezultat ***modelul ABCE*** (*fig. 9.35.*).

Încadrarea în clasa E s-a datorat faptului că anterior, la petunia s-au caracterizat gene ale clasei D (*FBP 7*, *FBP 11*), cu specificitate pentru identitatea placentei şi ovulului.

Pentru unele plante (ex. *Aquilegia*) intervine o variaţie a identităţii componentelor florale, ceea ce sugerează un program ABC mai complex. Floarea are în mod clar diferenţiat un al cincelea component floral, staminodium (Kramer şi al., 2007). Cercetări recente au reliefat faptul că gena *MOSAIC FLORAL ORGANS1* (*MFO1/MADS6*) de tipul *AGAMOUS-LIKE6* (*AGL6*) reglează identitatea componentelor florale şi a meristemului floral la orez (*Oryza sativa*) (Ohmori şi al., 2009). Diversitatea morfologică a florilor la angiosperme ar putea fi şi un rezultat al modificărilor privind reglarea expresiei genelor ABCE (Liu şi Mara, 2010).

Se pot distinge două tipuri de variabilitate în privinţa controlului molecular al dezvoltării diferitelor tipuri de flori:

- variaţii ale reţelei moleculare care controlează dezvoltarea florii, între specii cu arhitectura florală similară şi la care rezultatul final este acelaşi (patru componente florale: sepale, petale, stamine, carpele);
- variaţii între specii cu arhitectura florală diferită (exemple clasice la monocotiledonate: lalea, graminee) (Rijpkema şi al., 2010).

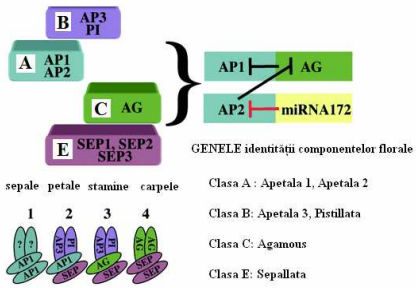


Fig. 9.35. Modelul ABCE al identităţii componentelor florale

<u>Al doilea principiu</u> important implică rolul central al **genei LEAFY** (*LFY*), care este un activator major al ieşirilor căilor inducţiei florale. În al doilea rând, ea este un activator cheie al genelor ABC. În sens larg, *<u>formarea florii poate fi divizată în 4 etape</u>*, care se desfăşoară într-o secvenţă temporală:

► Ca răspuns la factorii de mediu (ex.: fotoperioadă, temperatură) şi la semnalele endogene, planta comută de la creşterea vegetativă, la creşterea reproductivă. Procesul este controlat de un grup mare de gene, denumite gene ale timpului de înflorire.

► Semnalele diferitelor căi ale timpului de înflorire sunt integrate şi astfel se permite activarea unui grup mic de gene, denumite gene ale identităţii meristemului. Aceste gene determină identitatea florală (ex. *LEAFY*).

► Genele identităţii meristemului activează genele identităţii componentelor florale, în regiuni discrete ale florii (ex. modelul *ABCE*, după modelul *ABC* al anilor 1990).

►Genele identităţii componentelor florale activează genele care determină diferitele tipuri de celule şi ţesuturi, care vor reprezenta cele patru componente florale.

<u>Promovarea funcţionalităţii genelor timpului de înflorire</u> se consideră a se realiza prin intermediul a patru căi principale (*fig. 9.36.*).

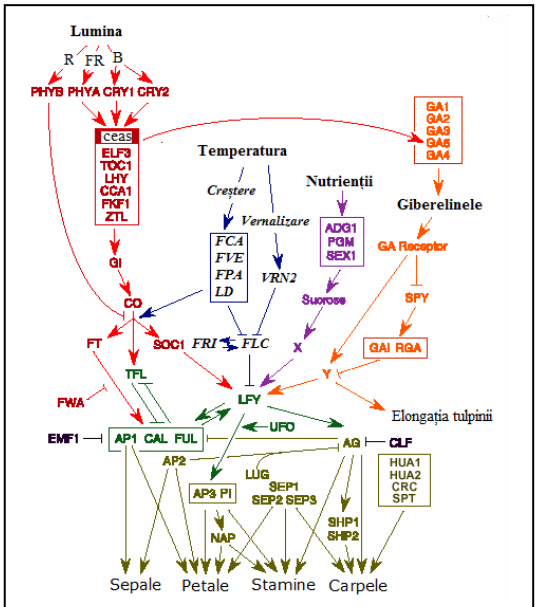


Fig. 9.36. Promovarea funcţionalităţii genelor timpului de înflorire (după Balazques, 2000)

1) Fotoperioadele lungi şi ceasul circadian

Genele multor căi în cazul zilelor lungi codifică proteine implicate în perceperea luminii.

La *Arabidopsis*, ceasul circadian este resetat de către semnalele luminoase, care sunt percepute de fitocromi (*phyA*, până la *phyE*) pentru roşu şi roşu îndepărtat şi criptocromi (*cry1* şi *cry2*) pentru lumina albastră.

Lumina şi componentele ceasului circadian conduc la activarea expresiei genelor *CONSTANS* (*CO*), *FLOWERING LOCUS T* (*FT*) şi *GIGANTEA* (*GI*) (Koornneef şi al., 1991), precum şi la reglarea stabilităţii şi activităţii proteinei CO (Hayama şi Coupland, 2004). Pentru reglarea stabilităţii proteinei CO, semnalele *phyA* şi *cry* funcţionează într-o manieră antagonistă semnalelor *phyB*. Semnalele *phyA* şi *cry* protejează proteina CO de la degradare, în timp ce semnalele *phyB* promovează degradarea (Valverde şi al., 2004). Mutantele CO înfloresc târziu, în special în fotoperioade lungi. Supraexpresia genelor CO determină înflorirea foarte timpurie.

2) Giberelinele

Calea implică promovarea înfloririi de către gibereline. Mutantele cu deficienţe în biosinteza GA (precum *ga 1*) exprimă o întârziere marcantă a timpului de înflorire, când sunt crescute în zile scurte. Se sugerează faptul că acidul giberelic este un stimulator important al înfloririi, în absenţa promovării procesului prin zile lungi (Moon şi al., 2003).

3) Calea autonomă

Această cale implică controlul înfloririi într-o manieră independentă de fotoperioadă. Spre exemplu, *Arabidopsis* (plantă facultativă de zi lungă) înfloreşte mai rapid, când este crescută în zile lungi. Planta poate eventual să înflorească şi când este crescută în fotoperioade scurte, non-inductive.

4) Vernalizarea

La multe specii de plante crescute în zonele temperate, înflorirea se realizează ca răspuns la tratamentele cu temperaturi joase pozitive (de obicei cuprinse între 0-10^{0}C), care imită trecerea peste iarnă.

Cercetările recente au sugerat de asemenea rolul acidului ascorbic în inducţia florală (Barth şi al., 2006). Datorită funcţiei sale esenţiale ca şi cofactor pentru biosinteza acidului giberelic şi acidului abscisic, acidul ascorbic pare a influenţa nu doar nivelul endogen, dar şi semnalele acestor hormoni. Prin aceasta este afectată dezvoltarea florii şi evoluţia senescenţei, într-o manieră dependentă de fotoperioadă şi /sau ritmul circadian.

După Bangeerth (2009), inducția florală la pomii fructiferi este diferită de cea a plantelor anuale / bianuale (*tabelul 9.2.*).

Tabelul 9.2.

Aspecte comparative a două modele implicate în inducția florală la plante anuale/ bianuale (stânga) și plante perene (dreapta)

Modelul calitativ moleculare-genetic	*Modelul cantitativ - semnal pe distanțe mari*
Factorii care influențează inducția florală	**Factorii care influențează inducția florală**
Fotoperioada; temperaturile joase (vernalizarea); gibereline; factori autonomi necunoscuți stimulează inducția florală	*Factori exogeni*: temperaturile joase (pomi subtropicali) (+); intensitate luminoasă mare (zona temperată) (+); distribuția apei (unii pomi tropicali) (+); fotosinteză intensă (suficienți hidrați de carbon) (+); producerea și transportul unor LDS (semnale hormonale pe distanțe mari) către meristeme accesibile /non-accesibile
"Florigen" (proteine ale inducției florale): produse și transportate din frunze sau alte țesuturi către SAM	*Factori endogeni*: număr mare de fructe/semințe (-); creșteri vegetative puternice (concentrație mare de acid giberelic) (-); tipul de portaltoi (puternic/slab)(-/+); localizarea mugurilor de-a lungul tulpinii (accesibili/ non-accesibili promotorilor florali) (+/-)
Expresia genelor timpului de înflorire / identitatea meristemului (tranziția morfogenetică)	*Practici horticole*: nutriție optimă mai ales cu N (+); îndepărtarea parțială a fructelor tinere (+); Inelare, incizie (+); tăieri în zona părții aeriene (iarna/vara) (-/+); tăieri la nivelul sistemului radicular (+)
Morfogeneza florală	*Hormonii*, ca semnale pe distanțe mari : gibereline (-); acidul indolil acetic (-); citochininele (+); etilena (+?)
(+) promovează înlorirea; (-) inhibă înflorirea;	

9.4.1.1. Fotoperiodismul şi ceasul circadian

Înflorirea multor angiosperme la aproximativ aceeaşi dată în fiecare an este un răspuns la modificarea lungimii nopţii şi zilei, pe măsura derulării sezoanelor. Aceasta se întâmplă chiar dacă începutul creşterii a avut loc la date diferite. Cu excepţia zonei ecuatoriale, trecerea anului este marcată printr-o continuă, dar puternică variaţie reproductibilă în ceea ce priveşte durata zilei (Brian, 2006).

► În 1920, cercetătorii Garner şi Allard au studiat comportamentul unei mutante nou descoperită la tutun, o varietate *denumită Maryland Mammoth*, care a crescut foarte înaltă şi avea frunze foarte mari. Aceasta nu a înflorit în cursul verii, aşa cum se întâmplă în mod normal la plante de tutun, ci înflorirea a avut loc doar către sfârşitul lunii decembrie. Experimentele de iluminare artificială iarna şi întuneric artificial vara au demonstrat că planta a fost afectată de fotoperioadă. Deoarece planta înflorea numai când era expusă la perioade scurte de lumină (mai puţin de 12 ore de lumină pe zi) a fost denumită plantă de zi scurtă. Deci, lungimea critică a zilei pentru *Maryland Mammoth* este 12 ore.

Răspunsul de creştere, dezvoltare sau metabolic al plantelor la durata de iluminare zilnică este denumit **fotoperiodism.** Fotoperioada reprezintă perioada de timp în cursul a 24 de ore, în care plantele sunt expuse la lumină. Plantele care înfloresc ca răspuns la durata de iluminare zilnică sunt denumite fotoperiodic senzitive.

După Thomas (1993), plantele fotoperiodic senzitive pot fi împărţite în *trei categorii*:

1) plante de zi scurtă (SDP) (ex. 10/14 ore lumină/ întuneric)

Aceste plante înfloresc numai când numărul orelor de întuneric din cursul a 24 de ore depăşeşte un nivel critic (planta măsoară lungimea perioadei de întuneric cu scopul de a înflori), cum este cazul la sfârşitul verii, toamna sau primăvara. Se comportă astfel plante precum poinsetia, crizantema etc.

2) **plante de zi lungă (LDP) (ex. 16/8 ore lumină/întuneric)**

Aceste plante încep înflorirea numai când durata nopţii scade sub un nivel critic, aşa cum se întâmplă primăvara şi vara. Este cazul unor plante precum spanac, salată, trifoi etc.

3) plante neutre

La aceste plante începutul declanşării înfloririi nu este controlat de fotoperioadă. Ele sunt deci independente atât la lungimea nopţii, cât şi a zilei, precum tomate, trandafiri, orez etc. Unele plante sunt fotoperiodic senzitive numai când sunt tinere şi devin neutre, pe măsura ce înaintează în vârstă.

De asemenea, unele plante sunt intermediare, adică înfloresc numai la o fotoperioadă intermediară, aşa cum este trestia de zahăr.

Sunt şi alte două grupe de plante: plante de zi scurtă-lungă (SLDP) care înfloresc când sunt expuse zilelor scurte, urmate de zile lungi şi plante de zi lungă-scurtă (LSDP), care pentru a înflori au mai întâi nevoie de zile lungi, apoi de zile scurte. Spre exemplu, trifoiul alb şi alte plante SLDP înfloresc în cursul zilelor lungi, înainte de mijlocul verii. Celălalt grup, respectiv LSDP nu pot înflori până când zilele lungi de vară sunt urmate de unele mai scurte, deci ele înfloresc numai în toamnă (ex. *Kalanchoe* este LSDP).

S-a determinat că **lungimea nopţii** este de fapt adevăratul factor care determină înflorirea la SDPs şi LDPs. Descoperirea s-a realizat prin întreruperea nopţii, iar constatarea a fost că un fleş de lumină roşie la plante de zi scurtă a prevenit înflorirea, în schimb, la plantele de zi lungă a fost favorizată înflorirea. Întreruperea zilei cu un scurt interval de întuneric nu a avut nici un efect la SDPs şi LDPs. Prin urmare, plantele de zi scurtă sunt corect denumite plante de noapte lungă, iar cele de zi lungă, plante de noapte scurtă.

În *tabelul 9.3*. sunt redate câteva exemple de specii SDP şi LDP.

Măsurarea lungimii zilei în plante este realizată de **ceasul circadian**, care controlează ritmurile circadiene ale expresiei genelor şi comportamentul care este observat la eucariote (inclusiv insecte, ciuperci, plante şi vertebrate).

Tabelul 9.3.

Exemple de specii SDP şi LDP (modificat după Thomas şi Vince- Prue, 1997)

Plante de zi scurtă (SDP)	**Plante de zi lungă (LDP)**
SDP calitative sau absolute (înfloresc numai în zile scurte)	LDP calitative sau absolute (înfloresc numai în zile lungi)
Fragaria x ananassa	*Avena sativa* (forma de primăvară)
Glycine max Biloxi	*Hyoscyamus niger* (anuală)
Kalanchoë blossfeldiana	*Jasminum grandiflorum*
Nicotiana tabacum Maryland Mammoth	*Lolium temulentum*
Oryza sativa	*Nicotiana sylvestris*
Pharbitis nil	*Papaver somniferum*
Xanthium strumarium	*Trifolium pratense*
SDP cantitative (înflorirea este accelerată de zile scurte)	LDP cantitative (înflorirea este accelerată de zile lungi)
Cannabis sativa	*Antirrhinum majus*
Cucumis sativus (unele soiuri)	*Arabidopsis thaliana*
Glycine max	*Dianthus caryophyllus*
Helianthus annuus, tuberosus	*Hemerocallis fulva*
Nicotiana tabacum	*Hordeum vulgare* (forma de primăvară)
Rhododendron spp.	*Linum usitatissimum*
Ricinus communis	*Petunia hybrida*
Zea mays	*Pisum sativum*

După Eckardt (2000), ceasul circadian la eucariote are trei componente: un ceas oscilator, care crează periodicitatea; intrările, care sincronizează sau antrenează oscilatorul în funcţie de ciclul zi - noapte şi ieşirile, care constituie ritmurile rezultate în expresia genelor şi comportamentului.

La *Arabidopsis thaliana*, ceasul circadian şi controlul căilor înfloririi implică genele *GIGANTEA* (*GI*), *CONSTANS* (*CO*) şi *FLOWERING LOCUS T* (*FT*), promovând înflorirea în zile lungi. De altfel, genele multor căi în cazul zilelor lungi codifică proteine implicate în perceperea luminii (de exemplu fitocromul A şi criptocromul 2) sau componente ale ceasului circadian (*GIGANTEA* şi *ELF*). În cadrul acestei căi, GI reglează ritmurile circadiene şi înflorirea şi acţionează înaintea genelor *CO* şi *FT*. Aceasta sugerează faptul că *GI* poate regla înflorirea indirect, prin afectarea ritmurilor circadiene. S-a propus că efectul *GI* asupra înfloririi nu este indirect, prin efectul său asupra reglării ceasului circadian. Mai degrabă, *GI* acţionează de asemenea în nucleu, pentru a promova mai direct expresia genelor timpului de înflorire (Mizoguchi şi al., 2005).

Mutantele CO înfloresc târziu, în special în fotoperioade lungi, în timp ce supraexpresia genelor *CO* determină înflorirea foarte timpurie. De asemenea, mutantele *FT* înfloresc târziu în zile lungi, deoarece imputul pentru activarea *FT* este promovat de ziua lungă, via *CO*.

Genele ceas codifică proteine reglatoare, care interacţionează pentru a produce oscilaţiile circadiene. Ceasul controlează activitatea genei *CONSTANS*, iar produsul (proteina CO) se acumulează în una din fazele ciclului ceasului, faza în care se lasă noaptea. În nopţi lungi (zile scurte) proteina CO este determinată în cursul nopţii **(***fig. 9.37*.).

Fotoperiodismul, fitocromul şi *florigenul*

Se pun o serie de întrebări:

- cine măsoară ciclurile zi-noapte ?
- care sunt lungimile de undă efective ?
- ce pigment este implicat ?

- cât de rapid este răspunsul ?
- cum circulă acesta etc. ?

! Frunza matură este receptorul, chiar dacă există doar o parte din frunză. Lumina albastră nu are efect. Doar lumina roşie trebuie aplicată, pentru a se elicita un răspuns. Spre exemplu, tratamentul unei singure frunze cu condiţii inductive de zile scurte a fost suficient pentru a induce înflorirea la *Xanthium strumarium* (Zeevaart, 1976). Fotoperioada este măsurată în frunză, dar mugurele distal devine o floare. Prin urmare, trebuie să existe un semnal sau semnale, care să se transmită către apexul tulpinii. Reprezentarea schematică a transportului acestui semnal este redată în *figura 9.38*. (Imaizumi şi Kay, 2006).

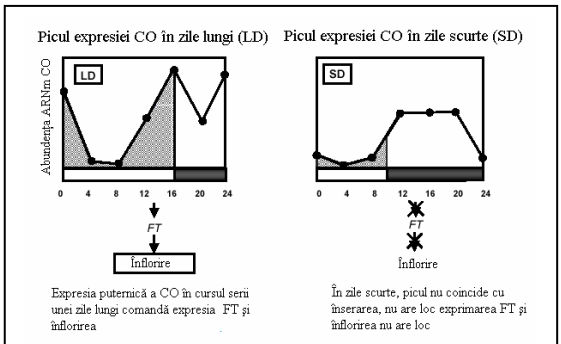

Picul expresiei CO în zile lungi (LD)
Picul expresiei CO în zile scurte (SD)
Abundenţa ARNm CO
LD
SD
0 4 8 12 16 20 24
FT
Înflorire
Expresia puternică a CO în cursul serii unei zile lungi comandă expresia FT şi înflorirea
În zile scurte, picul nu coincide cu înserarea, nu are loc exprimarea FT şi înflorirea nu are loc

Fig. 9. 37. Reglarea circadiană a ARNm pentru genele CONSTANS (CO)

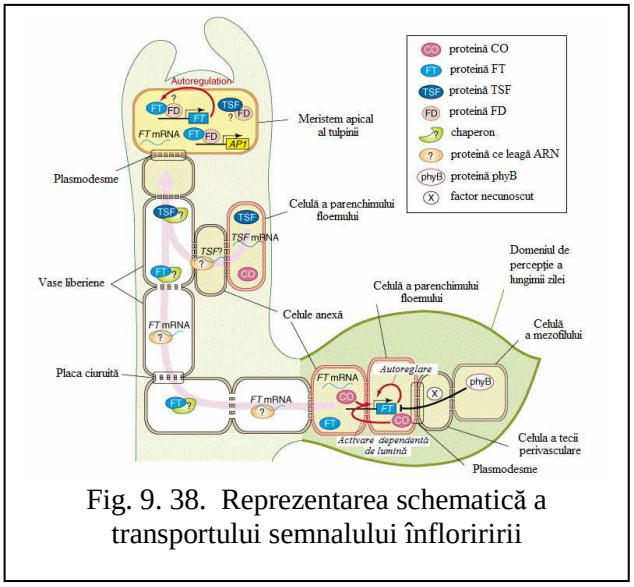


Fig. 9. 38. Reprezentarea schematică a transportului semnalului înfloririi

De asemenea, aşa cum s-a anticipat prin experimentele de altoire, pentru promovarea înfloririi este necesară expresia CO în sistemul vascular al frunzei. Ţintele CO includ FT şi SOC1. FT interacţionează cu FD (factor de transcripţie a bZIP). FT este predominant exprimat în sistemul vascular, în timp ce FD se exprimă la nivelul apexului tulpinii. Se sugerează faptul că ARNm al FT sau proteina pot în mod fizic să se deplaseze în plantă. Deplasarea se realizează din sistemul vascular al frunzei, unde acesta este indus de CO, către apex. Aici interacţionează cu FD, stimulează expresia AP1 şi apoi se activează înflorirea (Bäurie şi Dean, 2006) (*fig. 9.39.*).

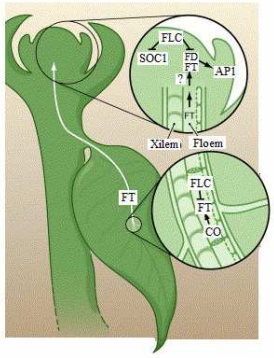


Fig. 9.39. Interacţiunile dintre fotoperioadă şi căile FLC

! Fitocromul este un fotoreceptor descris de către Borthwick şi Hendricks în 1959. Este de fapt primul receptor identificat în plante şi cunoscut până la începutul anilor 1990, când s-au identificat un număr de trei receptori posibili. S-au identificat cel puţin *trei clase de fotoreceptori*: fitocromii P_r şi P_{fr}, criptocromii şi UV fototropinele (Joanne şi Donying, 2001).

Fitocromul este o proteină solubilă, cu masa moleculară de circa 250 kDa. Este un homodimer, constituit din două subunităţi echivalente: molecule proteice, conjugate cu o moleculă care absoarbe lumina (comparabilă cu rhodopsin). Fiecare subunitate are două componente: o moleculă pigment care absoarbe lumina, denumită componenta cromofor şi un lanţ polipeptidic numit apoproteină. Apoproteina este un monomer cu masa moleculară de circa 125 kDa. Împreună, cele două componente alcătuiesc holoproteina (Andel şi al., 1997) (*fig. 9.40.*).

La plante sunt identificaţi 5 fitocromi: fitocromul A, fitocromul B, precum şi fotocromii C, D şi E. În timp ce tipurile C,D şi E sunt absente în anumiţi taxoni, tipurile A şi B sunt larg

răspândite şi reprezintă principalii mediatori ai răspunsurilor induse de radiaţiile luminoase roşii/roşu îndepărtat (Mathews, 2010).

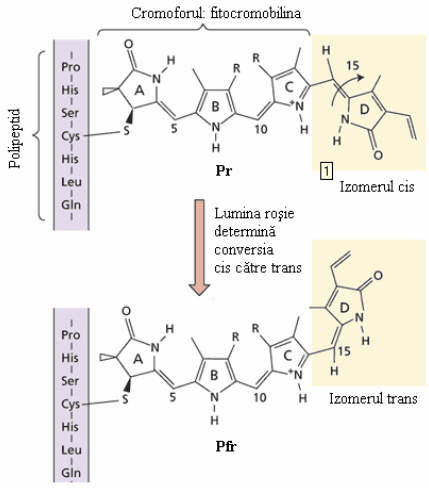


Fig. 9.40. Structura fitocromului

Fitocromul poate exista <u>sub două forme interconvertibile</u>:

► **P_r** absoarbe radiaţiile luminoase roşii (r - 660 nm). Este forma „stabilă” sau „inactivă”, ori de „depozitare”.

► **P_{fr}** absoarbe radiaţiile luminoase roşu îndepărtat (fr - 730 nm). Este forma „instabilă” şi în multe cazuri este considerat a fi forma activă.

Studiile genetice, moleculare şi fotobiologice au permis identificarea unui grup de factori de transcripţie, denumiţi *factori de interacţiune cu fitocromul* (PIFs), care leagă în mod direct fitocromii fotoactivaţi. Componenţi ai familiei PIFs s-a demonstrat a controla reglarea expresiei genelor sub controlul luminii, în mod direct sau indirect (Castillon şi al., 2007).

Relaţia de interconversie este următoarea:

- absorbţia luminii roşii de către P_r determină transformarea în P_{fr};
- absorbţia luminii roşu îndepărtat de către P_{fr} determină transformarea în P_r;
- la întuneric, P_{fr} se transformă spontan în P_r (*fig. 9.41.*).

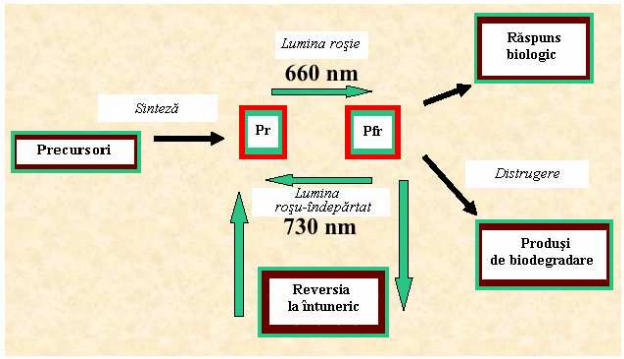


Fig. 9.41. Procese care intervin în reglarea turnovărului fitocromului în celule

Fotoreversibiltatea fitocromului este exprimată în cadrul fenomenului de „întrerupere a nopţii”. Lumina roşie transformă P_r la P_{fr}, ceea ce înhibă înflorirea la plante de zi scurtă. La plantele de zi lungă, aparent, P_{fr} favorizează înflorirea. La plante neiluminate, fitocromul este prezent sub forma P_r. Această formă este convertită de lumina roşie la P_{fr}, care absoarbe lumina roşu îndepărtat. La rândul său, P_{fr} poate fi transformat înapoi în P_r, prin intermediul luminii roşu-îndepărtat. Cercetările au demonstrat că în cele mai multe cazuri, forma fiziologic activă este $P_{fr.}$ În situaţia în care nu s-a găsit o relaţie directă a unui răspuns, cu cantitatea P_{fr}, s-a considerat ca fiind determinant raportul P_{fr}/P_r.

Dar, cum intervine fitocromul ?

Lumina provenită de la soare este mai bogată în radiaţii roşii (660 nm), decât în radiaţii roşu-îndepărtat (730 nm).

Astfel, la apusul soarelui, toată cantitatea de fitocrom este P_{fr}. Pe parcursul nopţii, are loc conversia P_{fr} înapoi la P_r ,care reprezintă forma necesară pentru eliberarea semnalului înfloririi. Prin urmare, planta are nevoie de 8,5 ore de întuneric, pentru a se transforma tot P_{fr} prezent la apusul soarelui, în forma P_r, aşa încât să urmeze reacţii suplimentare, care să permită eliberarea unui semnal al înfloririi (florigen). Dacă procesul este întrerupt de un fleş de lumină roşie - 660 nm, P_r este imediat transformat în P_{fr} şi sarcina nopţii este neîndeplinită. O expunere ulterioară la lumina

roşu-îndepărtat (730 nm) permite conversia pigmentului înapoi la forma P_r şi astfel treptele necesare eliberării florigenului pot fi completate.

Expunerea la începutul nopţii la lumină intensă roşu îndepărtat setează ceasul înainte cu circa două ore şi astfel se elimină necesitatea conversiei spontane a P_{fr} la P_r . **Efectul** îl reprezintă probabil transportul unei substanţe în decurs de ore către tulpină, prin floem şi o plantă expusă unei fotoperioade corecte, poate stimula prin altoire înflorirea altei plante (expusă incorect fotoperioadei).

La *Papaver somniferum* L.(plantă de zi lungă, cu o lungime critică a zilei (lumină/zi) de 14-16 ore), înflorirea a fost indusă de 2 sau mai multe fotoperioade lungi sau de o singură perioadă de lumină, mai mare de 24 ore (Gentner şi al., 2001). Înflorirea nu a fost controlată de iluminarea cu lumină roşie, roşu îndepărtat sau ambele tipuri. Deci, nu s-a demonstrat implicarea fitocromului (deşi prezenţa sa nu a fost exclusă). Se pare că lumina controlează înflorirea, prin ceea ce se cheamă – reacţie de înaltă energie.

Florigenul ca semnal al înfloririi a fost descris prima oară de *Chailakhyan*, fiziolog rus, în 1937 (Chailakhyan, 1968). El a demonstrat că inducţia florală poate fi transmisă prin altoirea unei plante induse, pe una neindusă. Pentru a se verifica dacă florigenul din plantele de zi scurtă este identic funcţional cu cel al plantelor de zi lungă, s-au efectuat experimente bazate pe altoire. Dacă o frunză de *Nicotiana tabacum* (cv. *Maryland Mammoth* - SDP) este altoită pe *Nicotiana sylvestris* (LDP), ultima înfloreşte de asemenea în zile scurte. Dacă o frunză de *N. sylvestris* (LDP) este altoită pe SDP, ultima înfloreşte în condiţii de zile lungi. S-a demonstrat astfel că florigenul la SDP este identic cu cel de la LDP, deci este vorba probabil despre aceeaşi substanţă. La plantele neutre, de asemenea se formează florigen. Acţiunea acestuia este aceeaşi ca la plante fotoperiodic senzitive, dar formarea sa este independentă de durata de iluminare zilnică.

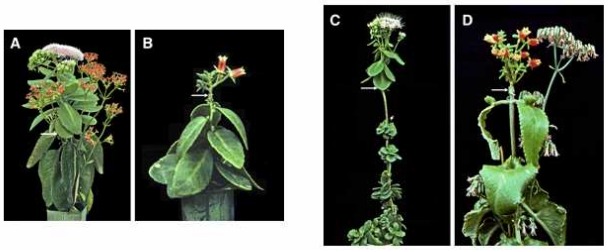
Prin urmare:

● în frunzele plantelor se produce o substanţă asemănătoare unui hormon (florigen);

Este probabil un complex de substanţe, care sunt conduse către meristemul tulpinii, cu scopul de a le stimula să treacă de la creşterea vegetativă, la formarea florilor;

● florigenul nu este specific speciei;

El poate fi transferat membrilor aceleiaşi specii, membrilor unui gen şi membrilor a diferite genuri. Transferabilitatea pare a fi limitată doar de acceptabilitatea la altoire. Pare a fi importantă o bună conexiune între floemul a doi parteneri. Altoirea la monocotiledonate este foarte dificilă şi transferul florigenului prin altoire nu a avut succes. S-a demonstrat însă necesitatea altor tehnici. Florigenul este fiziologic nespecific. El poate fi uşor schimbat între plante de zi scurtă, zi lungă (*fig.9.42.*) şi plante neutre. Este deci identic la toate plantele. Principala diferenţă între plantele de zi lungă şi cele de zi scurtă este aceea că producerea florigenului are loc numai într-un anumit program de lumină (inductiv), care diferă la cele două tipuri de plante.



A. Kalanchoë blossfeldiana (SDP), ca donor pentru receptorul Sedum spectabile (LDP)

B. Sedum spectabile (LDP), ca donor pentru receptorul Echeveria harmsii (SLDP)

C. Bryophyllum crenatum (LSDP), ca donor pentru acceptorul Sedum spectabile (LDP)

D. Bryophyllum daigremontianum (LSDP), ca donor pentru acceptorul Echeveria harmsii (SLDP)

Fig. 9.42. Patru exemple de plante Crassulaceae, la care înflorirea este indusă la un altoi neindus, prin transmiterea florigenului, de la un portaltoi indus floral (după Zeevaart, 2006)

►*Răspunsul ţesuturilor vegetative* la acţiunea florigenului are loc dacă aceste ţesuturi sunt în *stadiul competent* de a răspunde la acest stimul. La unele plante, răspunsul are loc dacă apexul vegetativ a atins o anumită dimensiune. La nivel molecular, evocarea florală (modificările iniţiale citologice şi morfologice care intervin într-un meristem apical al unei plante plasată în condiţii fotoperiodice favorabile inducţiei florale) se referă la procesele în care genele reglatoare sunt activate în meristemul competent (O ' Neill, 1989).

Ulterior, ipoteza lui Chailakhyan a fost modificată şi s-au conturat 2 clase de hormoni florali: gibereline şi antezin. Chailakhyan considera că în cursul fotoperioadelor non-inductive, plantele de zi lungă produc antezin şi nu gibereline, în timp ce plantele de zi scurtă produc gibereline şi nu antezin.

●*Existenţa unui hormon al înfloririi a stat sub semnul întrebării peste 60 de ani*, deoarece răspunsul privitor la înflorire s-a găsit a fi mult mai complex. Totuşi, ***exprimente recente sugerează că florigenul există***. Existenţa sa este susţinută de experimente care indică faptul că substanţa care comandă înflorirea este produsă sau activată în frunzele plantei şi trebuie să treacă timp de la plecarea sa din frunză, înainte ca planta să poată înflori.

Sunt câteva descoperiri ale ultimilor ani în privința fotoperiodismului și atributelor florigenului, folosind pentru astfel de studii planta de zi lungă *Arabidopsis thaliana* (Imaizumi și Kay, 2006; Zeevaart, 2006).

► ***Modelul coincidenței externe*** propus ca ipoteză de către Bünning în 1936 este astăzi cel mai apropiat de rezultatele studiilor genetice.

Lumina joacă două roluri cruciale.

Un rol este acela de a reseta ceasul circadian. Ea are importanță pentru generarea oscilației zilnice a unui component reglator cheie, cu expresia picului după masa târziu.

Al doilea rol este reglarea activității acestui component. Răspunsurile fotoperiodice vor fi comandate numai când nivelurile reglatorului aflate peste o limită de prag coincid cu lungimea zilei, ca factor extern. La plantele de zi lungă, funcția reglatorului cheie este de a promova înflorirea. Pentru că ceasul circadian setează întotdeauna expresia picului reglatorului după masa târziu, coincidența cu lumina are loc mai mult în zile lungi și mai puțin în zile scurte. În consecință, reglatorul este mai activ în zile lungi, ceea ce are ca efect accelerarea înfloririi. La plantele de zi scurtă, factorul reglator funcționează prin a înhiba inflorirea.

9.4.1.2. Giberelinele

La câteva plante de zi lungă şi bienale, dacă sunt crescute în fotoperioade non-inductive, înflorirea poate fi determinată prin tratament cu giberelină (Lang şi Lyons,1994). Giberelinele induc probabil exensia (creşterea) plantelor în rozetă şi la unele LDP, elongaţia rapidă a tulpinii pare a fi interconectată cu activarea genelor înfloritului. Mutantele cu deficienţe în biosinteza GA (ex. *ga1*) exprimă o întârziere marcantă a timpului de înflorire, dacă sunt crescute în zile scurte. Comparând diferite gibereline, s-a concluzionat că unele sunt exclusiv în relaţie cu inducţia înfloritului (Takahachi şi al., 1991), deşi există şi lucrări care menţionează că acestea nu au nici un efect.

La multe plante ierboase din zona temperată, înflorirea este indusă de zile lungi sau de tratamente cu GA_3. La *Lolium temulentum* este nevoie de o singură zi lungă, pentru iniţierea înflorescenţei. Această cerinţă poate fi asigurată în zile scurte neinductive, printr-o singură aplicare a unei gibereline pe frunză sau pe apexul tulpinii (Evans şi al., 1990).

S-au pus întrebări precum: care gibereline induc evocarea florală? care induc elongaţia tulpinii? unele influenţează ambele procese? „Cheia” o constituie legătura lanţului lactonei, cu conversia GA_{19} la GA_{20} şi GA_{24} la GA_9. Această etapă implică 20-oxidaza, a cărei activitate creşte în zile lungi, aşa cum s-a demonstrat la *Arabidopsis* (Xu şi al., 1997)

9.4.1.3. Redirecţionarea autonomă

La mazărea de grădină (*Pisum sativum*) spre exemplu, momentul redirecţionării apexului vegetativ este determinat genetic (ca în cazul soiurilor cu înflorire timpurie sau târzie), poate fi influenţat de factori externi, dar factorii proveniţi din frunze nu influenţează în mod semnificativ procesul.

Calea autonomă este necesară atât în fotoperioade scurte, cât şi în fotoperioade lungi.

Calea autonomă cuprinde un grup de şase gene (*FCA, FT, FLD, FVE, FPA şi LD*). În cazul mutaţiilor se produc fenotipuri cu înflorire târzie. Deoarece aceste mutante nu prezintă defecte în ceea ce priveşte capacitatea lor de a răspunde la zile lungi şi semnale ale vernalizării, s-a sugerat că ele pot răspunde la un semnal intern de dezvoltare. De asemenea, genele autonome funcţionează în diferite subgrupe, pentru promovarea înfloririi Asemenea căilor induse de genele vernalizării (*PIE* şi *VIP)*, ţinta majoră a genelor autonome este represia *FLC.*

9.4.1.4. Vernalizarea

Vernalizarea *reprezintă o accelerare a capacităţii de înflorire a unor specii de plante, ca răspuns la expunerea seminţelor îmbibate sau a mugurilor, la acţiunea temperaturilor coborâte, pozitive* (cuprinse între 2-12 ^{0}C) (Chouard,1960).

Arabidopsis din regiunile cu ierni reci adoptă o strategie reproductivă cunoscută ca ciclul de viaţă anual de iarnă. Aceste plante germinează în cursul verii, cresc vegetativ în cursul iernii şi înfloresc numai ca răspuns la zilele lungi din primăvară, după ce au fost expuse la una, până la trei luni cu temperaturi joase. *Arabidopsis* cu un ciclu de viaţă anual rapid, de vară, nu necesită vernalizare. Germinarea, creşterea şi înflorirea au loc în aceeaşi vară.

Cercetările cu privire la genele responsabile pentru conferirea cerinţelor pentru vernalizare la *Arabidopsis* au condus la găsirea a două gene alele dominante: genele *flowering locus C* (*FLC*) şi *Frigida* (*FRI*) care acţionează în mod sinergic (*fig. 9.43.*) (Putterill şi al., 2004). *FLC* este un represor important al înfloririi. Numeroase gene diferite, inclusiv cele ale căilor vernalizării şi ciclului autonom reglează expresia sa. La ecotipuri care în mod normal au o înflorire târzie, *FRI* acţionează prin a spori şi vernalizarea prin a reduce nivelele *FLC* (Johanson şi al., 2000). *FLC* are de asemenea un rol prioritar în vernalizare. Vernalizarea promovează înflorirea, prin reducerea nivelului ARNm pentru *FLC*. Durata de reducere este proporţională cu timpul de vernalizare şi este strâns corelată cu timpul de înflorire.

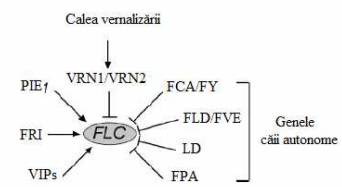


Fig. 9.43. Controlul multiplu al expresiei genei *FLC*

Michaels şi Amasino (2000) au propus un „*model reostat*" al timpului de înflorire. Sporirea nivelelor *FLC* este asociată cu conversia unei specii sau ecotip, de la tipul de creştere anuală, la unul de plantă bianuală.

La multe specii de plante crescute în zonele temperate, înflorirea se realizează ca răspuns la tratamentele cu temperaturi joase. Astfel de **plante** sunt numite ***termoinductive***. Un exemplu clasic este cel al seminţelor anumitor cereale, cum este cazul la grâu şi secară.

Din acest punct de vedere sunt:

► *plante cu vernalizare obligatorie;* În general, la plantele lemnoase este necesară expunerea la temperaturi coborâte, pentru a putea înflori. Excepţie fac *Castanea sativa* şi *Siringa vulgaris,* la care mugurii florali se formează în anul în care are loc înflorirea.

► *plante fără exigenţe la vernalizare;* Spre exemplu: la grâul de toamnă, seminţele germinează toamna de vreme, perioada de iarnă este parcursă sub formă de plantulă şi temperaturile coborâte sunt facultative.

► *plante indiferente;* Plantele anuale de vară (cum este şi cazul tomatelor) nu necesită vernalizare, pentru a parcurge întreg ciclul de viaţă.

a) Vernalizarea cerealelor de toamnă

Grâul de primăvară se seamănă primăvara, înfloreşte în acelaşi an şi este o plantă anuală. Grâul de toamnă este bianual, se seamănă în toamnă şi înfloreşte în vara anului următor. Dacă grâul de toamnă nu este expus la temperaturi joase pozitive în primul an de viaţă, nu va înflori normal în cel de-al doilea an. Implicaţiile acestor descoperiri au fost de un deosebit interes pentru agricultură în Rusia, deoarece grâul de toamnă produce mai mult decât cel de primăvară, dar nu poate fi cultivat în anumite zone ale Rusiei, căci iernile sunt mult prea reci pentru a supravieţui. Experimentele efectuate în anii 1900 în Rusia au demonstrat că dacă seminţele grâului de toamnă sunt preîmbibate şi prerăcite, pot fi semănate în primăvară şi vor înflori normal în acelaşi an (chiar în zonele nefavorabile).

În urma *experimentelor efectuate la secară*, soiul Petkus, Gregory şi Purvis (1952) au concluzionat că forma de primăvară nu necesită vernalizare. Soiul Petkus este o plantă tipic de zi lungă (LDP) şi în astfel de condiţii, apexul formează structuri reproductive după circa 7 frunze formate. În zile scurte însă (10 ore) formează flori numai după formarea a 12 frunze. Varietatea de toamnă, care germinează în condiţii de temperaturi mari (18^0C) produce 12 frunze înainte de a înflori. Dacă însă seminţele germinate sunt ţinute la circa 1^0C pentru câteva săptămâni, devin precum cele de la varietatea de primăvară. De asemenea, se poate produce şi devernalizarea, dacă seminţele germinate se ţin la 25-40^0C timp de 4 zile.

Vernalizarea nu înseamnă totul sau nimic. Este un proces lent, cantitativ, în care prelungirea periodelor de frig cauzează o progresivă înflorire mai timpurie, până când este atins un punct de saturaţie.

S-a considerat că în acest proces ar fi implicat un mesager chimic denumit *vernalin***.**

Mesagerul chimic se consideră a fi reprezentat de un complex de substanţe, care se găsesc în mod normal în ţesuturile plantelor şi care determină expresia genelor înfloritului.

Răspunsul grâului la vernalizare este determinat genetic de către genele *Vrn-A1*, *Vrn-B1* şi *Vrn-D1* (denumite anterior Vrn1, Vrn2 şi Vrn3), fiecare dintre acestea având una sau două forme alele (Kosner şi Pánková, 2002).

Situsul de acţiune al vernalizării pare a fi meristemul tulpinal al embrionului.

Efectul înregistrat astfel este transmis pe parcursul germinării şi a creşterii plantelor, pe calea diviziunii celulare succesive, precum şi pe parcursul ramificării sistemului radicular. Prin urmare, există o clară separare temporală între perceperea frigului şi comutarea de la creşterea vegetativă, la creşterea reproductivă. La unele specii, această „memorie" a vernalizării poate fi menţinută până la 330 zile (Lang, 1965). Flood şi Halloran (1986) au precizat că vernalizarea poate avea loc în trei stadii ale ciclului de creştere a plantelor de grâu: pe parcursul germinării, pe parcursul creşterii vegetative şi pe parcursul formării seminţei la nivelul plantei mamă.

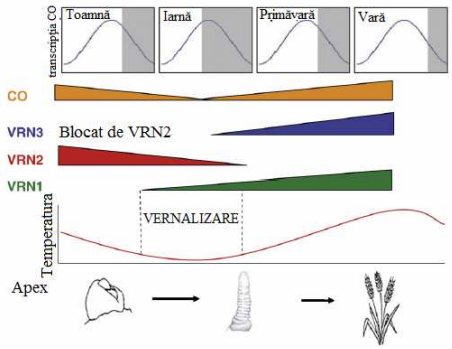


Fig. 9. 44. Model al reglării genelor vernalizării şi fotoperioadei, de către modificările factorilor de mediu, la cerealele de toamnă fotoperiodic senzitive (după Distelfeld şi al., 2009)

Cercetările recente şi analiza moleculară a celor două gene, *Vrn-A1* şi *Vrn-B1*, precum şi studiul efectelor asupra expresiei *FLC* sugerează faptul că menţinerea vernalizării prin diviziuni multiple este o reminescenţă a fenomenului epigenetic. Modificările stărilor epigenetice sunt adesea corelate cu dezvoltarea unor alterări impuse în metilarea ADN genomic şi în structura la locusul *FLC*, ca baze ale acestei memorii celulare a vernalizării (Habu şi al., 2001).

În *figura 9.44*. este prezentat un model care ilustrează expresia principalelor gene ale vernalizării şi fotoperioadei, pe parcursul creşterii cerealelor de toamnă fotoperiodic senzitive.

b) Vernalizarea plantelor bianuale

Aceste plante (la care ciclul de viaţă se încheie în doi ani) necesită un sezon pentru creştere vegetativă şi au nevoie de tratament cu frig pentru a înflori. Sunt şi multe plante perene (care înfloresc în fiecare an fără a muri), care au o cerinţă strictă pentru temperaturi joase, în vederea înfloririi.

La *Hyoscyamus niger* (LDP), plantă bianuală, în primul an se formează o rozetă vegetativă, cu o rădăcină de depozitare a substanţelor de rezervă. În al doilea an, după un număr de zile lungi, se formează o tulpină lungă cu flori. Vernalizarea plantelor nu se poate face în stadiul de sămânţă sau plantulă.

Efectul temperaturilor joase este perceput doar dacă intervin în *faza de rozetă*, când meristemul vegetativ este în stadiul competent pentru perceperea stimulului.

S-a constatat că giberelinele (ex. GA_3) sunt capabile să înlocuiască tratamentele cu temperaturi joase. Aceasta nu îndreptăţeşte a se afirma cu precizie că tratamentele cu frig ar induce formarea giberelinelor endogene.

La *Arabidopsis* (plantă care creşte ca o rozetă până la iniţierea florală, când se formează tulpini florale lungi) acidul giberelic este factorul major care stă la baza formării tijelor florale. Vernalizarea nu doar sporeşte biosinteza GA în rozeta vegetativă, ci de asemenea sporeşte senzitivitatea tulpinii la GA (Oka şi al., 2001).

c) Vernalizarea plantelor perene

La *Geum urbanum* frunzele sunt dispuse în rozetă, iar subteran prezintă un rizom. Primăvara apar lăstari, pe care se formează flori. Mugurele terminal al rozetei nu se vernalizează şi astfel se asigură perenitatea. Numeroase date interesante referitoare la această specie se regăsesc într-o lucrare amplă a lui Taylor (1997).

La plantele lemnoase, efectele temperaturilor joase pot fi în relaţie cu reducerea perioadei dormanţei la muguri şi activarea genelor endogene. Spre exemplu, în mugurii de *Juglans regia* s-au găsit înhibitori puternici toamna şi iarna. Primăvara de vreme, aceştia sunt înlocuiţi de către substanţe stimulatoare, în special gibereline. Se menţionează faptul că, probabil, giberelinele contribuie la vernalizare, chiar în condiţii naturale.

Din punct de vedere fiziologic, *între vernalizare şi dormanţă sunt numeroase similarităţi* (Metzger, 1996):

▪ pentru inducţia înfloririi şi inducţia ieşirii din dormanţă, optimum de temperatură este cuprins între $0\text{-}10^0$C;

▪ situsul de percepţie este reprezentat de regiunile meristematice ale mugurelui;

▪ perioada de frig pentru ieşirea din dormanţă este similară cu cea care asigură inducţia unei înfloriri maxime.

Termoperiodismul

Termoperiodismul reprezintă *procesele de răspuns ale plantelor la diferite optimumuri de temperatură pe parcursul zilei şi al nopţii. Modificările periodice zilnice ale optimului de temperatură sunt manifestări ale ritmurilor endogene, controlate de ceasul fiziologic.*

Spre exemplu, la tomate (*Lycopersicon lycopersicum*) creşterea cea mai bună se realizează în condiţiile de lumină date, dacă temperatura este de circa 26^oC ziua şi $17\text{-}20^o$C noaptea. Efectul pozitiv al temperaturilor mici se manifestă numai dacă acestea acţionează noaptea, nu pe parcursul zilei. Modificările de temperatură sunt de asemenea favorabile pentru legarea fructelor. Condiţiile optime sunt atunci când noaptea temperaturile sunt cuprinse între $15\text{-}20^o$C.

De asemenea, termoperiodismul are un rol deosebit de important pentru *înflorirea plantelor cu bulbi şi rizomi* (lalea, narcise, zambile etc.). Primăvara de vreme, graţie rezervelor din bulb apar

frunzele, apoi rapid apare floarea sau inflorescenţa. După înflorire, se reconstituie un nou bulb la lalea sau vechiul bulb închide noi tunici, începând a se forma din centrul bulbului, unde se acumulează rezerve. La sfârşitul primăverii (iunie), frunzele se usucă şi mugurii rămân în repaus toată vara, în solul mai mult sau mai puţin cald. În timpul acestei perioade, mugurele apical poate să diferenţieze, în momentul când frunzele s-au uscat. Dacă bulbul este foarte mic, el va rămâne vegetativ. Solul trebuie să atingă 8-9^o C, pentru ca organele formate să treacă starea de dormanţă şi să poată primăvara următoare să înflorească.

Este deosebit de importantă cunoaşterea diferitelor stadii de dezvoltare a bulbilor şi exigenţele termice optime pentru fiecare dintre acestea. Astfel, va fi posibil să plasăm bulbul matur (după uscarea părţii aeriene) în condiţii care vor accelera organogeneza. Se va permite astfel obţinerea de flori şi în altă perioadă, conform cu cerinţele.

Olandezii (mari producători de bulbi) sunt interesaţi în mod deosebit de această organogeneză. Iată spre exemplu, la *Tulipa* se disting următoarele stadii:

- I- mugurele apical încă vegetativ;
- II- debutul organogenezei;
- P_1- ciclul extern de perigon format;
- P_2- ciclul intern de perigon format;
- A_1- primul rând de stamine format;
- A_2- al doilea rând de stamine format;
- G- formarea gineceului

În luna iunie, bulbii se găsesc mai mult sau mai puţin în stadiul II.

Referitor la condiţiile de asigurat pentru inducţia florală, se practică diferite scheme de tratament.

La *Hyacinthus* apare o inflorescenţă, iar dezvoltarea începe cu florile de la bază. Stadiile parcurse sunt:

- I- mugure apical încă vegetativ;
- II- începutul formării inflorescenţei;
- P_r- primii muguri florali vizibili;
- Br.- bracteea este vizibilă
- P_1- primul ciclu cu petale formate;
- P_2- al doilea ciclu cu petale formate;
- A_1- formarea primului ciclu de stamine;
- A_2- al doilea ciclu de stamine formate;
- G- formarea ginecelui.

Între 15-20 iunie, când plantele sunt în stadiul I sau II, sau mai devreme, se începe pregătirea pentru forţat. Dacă stadiul II este atins sau chiar depăşit, se poate începe pregătirea cu temperaturi ridicate, cu 23^{o}C timp de 10 zile, la sfârşit obţinându-se inflorescenţe mari.

9.5. Fiziologia legării, maturării şi senescenţei fructelor

Legarea fructului reprezintă creşterea rapidă a ovarului, care se realizează de obicei după polenizare şi fecundare, procese care au o importanţă deosebită pentru producerea de seminţe viabile. Sunt însă şi situaţii când se dezvoltă fructe fără a avea loc polenizarea şi fecundarea, iar procesul este denumit *partenocarpie*. Partenocarpia poate fi: vegetativă (fructul se dezvoltă fără polenizare, ex.ananas) sau stimulativă (necesită stimulul polenului, fără însă o ulterioară fecundare pentru a lega fructul, ex. strugurii *Black Corinth*).

Aplicarea auxinelor sintetice precum NAA s-a dovedit eficace în promovarea legării fructelor la căpşun, tomate, vinete. Citochininele sintetice au îmbunătăţit legarea fructelor la struguri. Creşterea numărului fructelor legate s-ar putea explica prin capacitatea citochininelor de a mobiliza asimilatele, către zona unde s-au aplicat.

În privinţa maturării fructelor, trebuie în primul rând făcută distincţia dintre procesele de: *maturitate de recoltare*, *maturitate de consum* (*ripening*) şi *senescenţă* (Dennis Jr., 1986). Spre

exemplu, în cazul merelor, la maturitatea de recoltare fructele ajung la capacitatea de a se „coace" propriu zis. „Coacerea fructului" (ripening) este procesul în cursul căruia fructul matur devine în totalitate edibil şi include numeroase evenimente fiziologice. Senescenţa ţesutului unui fruct urmează maturităţii de consum şi este un proces de deterioare, conducând eventual la moarte.

Maturarea fructelor este un proces natural, ireversibil, iar la anumite fructe este asociată cu un climacteric respirator (ex. mere) sau facilitată prin detaşarea fructului de pe pom. Mărul fiind un fruct climacteric, etilena endogenă se menţine în limite mici (< 0,1 ppm) până la maturitate, apoi creşte rapid permiţând maturarea. Aceasta include **creşterea ratei respiraţiei (climacteric)**, sinteza de enzime, scăderea fermităţii mezocarpului, conversia amidonului la glucide simple, sinteza substanţelor volatile etc. (Pech şi al., 1994).

Maturarea fructelor şi manipularea procesului prezintă o importanţă deosebită în practica horticolă.

Tomatele au servit ca model primar pentru studiul dezvoltării şi maturării fructelor (Giovannoni, 2007), fiind descrise câteva gene implicate în procesul de expansiune celulară, în relaţie în special cu diviziunea celulară şi ciclul celular. Procesul de maturare a fost studiat mai mult, au fost descrise gene importante, precum cele care reglează etilena, aşa cum reliefează rezultatele obţinute de Vrebalov şi al. (2009).

Cercetările în domeniu şi practicile postrecoltă au menirea să prelungească durata de păstrare a fructelor, prin întârzierea fazei de *senescenţă* şi controlul procesului de *ripening* a fructelor recoltate în stadiu de fruct matur, dar „necopt". Aceasta se poate realiza prin scăderea temperaturii lor sau prin modificarea compoziţiei gazoase a mediului de păstrare, respectiv scăderea concentraţiei de O_2 şi a concentraţiei de etilenă şi adjustarea corespunzătoare a concentraţiei de CO_2 (Bower şi Cutting, 1988).

Pentru un anumit fruct (specie), o rată mărită a respiraţiei este de obicei asociată cu reducerea perioadei "vieţii de raft". De asemenea, rata respiraţiei indică rata deteriorării calităţii şi valorii nutritive (Phan şi al., 1975). Cunoaşterea modificărilor metabolice asociate cu maturitatea de consum este esenţială pentru îmbunătăţirea păstrării fructelor proaspete, precum şi pentru prevenirea dereglărilor fiziologice care pot fi iniţiate pre – sau postrecoltare (Burzo, 1986; Delian şi al., 1996, 2000; Dilley, 2000).

Este cunoscut faptul că **etilena este implicată în acest proces în cazul multor fructe.**

Modalitatea de valorificare a acestor cunoştinţe poate fi următoarea:

▪ pentru a grăbi şi a uniformiza maturitatea de consum (conform cu cerinţele pieţei) pot fi aplicate tratamente cu etilenă, substanţe chimice care eliberează etilenă sau compuşi care stimulează biosinteza acestui hormon;

▪ pentru a întârzia maturarea (în scopul prelungirii vieţii de raft) se provoacă blocarea sintezei etilenei sau a acţiunii ei, ori eliminarea etilenei din jurul fructelor.

În privinţa direcţiilor de viitor pentru tehnologia postrecoltă a produselor horticole, date interesante sunt prezentate în lucrarea de sinteză a lui Sharples (1990). De asemenea, aspecte privind biologia maturării şi senescenţei merelor au fost prezentate de Dilley şi al.(1993).

9.6. Senescenţa, abscisia şi moartea

Ciclul de dezvoltare al plantelor presupune parcurgerea fazelor de tinereţe (perioadă în care predomină procesele de creştere şi în care planta nu este aptă să înflorească), de maturitate (în cadrul căreia planta conţine ţesuturi juvenile, dar şi adulte, diferite din punct de vedere morfologic şi fiziologic, ultimele fiind capabile să producă flori) şi respectiv faza de îmbătrânire sau senescenţă, care culminează cu moartea (moartea naturală reprezintă punctul culminant al senescenţei).

Derularea acestor faze diferă în funcţie de specia de plantă: la anumite plante perene, întreaga parte supraterană moare în fiecare an (rădăcinile însă supravieţuiesc şi dau naştere la noi muguri); la plantele anuale, întreaga plantă moare în fiecare an, exceptând seminţele etc.

Senescenţa poate fi observată fie la toată planta sau la unele părţi ale plantei: frunze, flori, fructe.

Senescenţa *este un proces fundamental în cadrul dezvoltării plantelor superioare. Este un proces controlat genetic, aflat sub acţiunea factorilor de mediu şi în strânsă interdependenţă cu hormonii vegetali.*

Deşi se manifestă diferenţiat în cadrul a diferite organe ale plantelor, din punct de vedere biochimic, procesele care au loc par a fi similare. Natura biochimică a acestora nu este pe deplin elucidată, dar se pare a fi reglate de procesele de transcripţie a ADN, alături de care un rol deosebit revine hormonilor.

Dacă îmbătrânirea (aging) este un proces pasiv (indus de numeroşi factori, mai ales exogeni, cu inducerea unui declin graduat al proceselor fiziologice: în special al funcţiilor genetice şi membranale), faţă de care organismele diferă în privinţa susceptibilităţii lor, senescenţa este considerat un proces activ, ordonat, în cadrul căruia pare a fi implicată sinteza de nou ARN şi de enzime noi.

Ca argumente în acest sens pot fi: capacitatea condiţiilor lipsite de oxigen şi a înhibitorilor respiraţiei de a bloca simptomele senescenţei, fără omorârea ţesuturilor, cel puţin nu foarte repede; multe procese care par a fi componente ale senescenţei, necesită energie. De altfel, menţinerea structurilor şi a activităţii mitocondriale până foarte târziu în cadrul fazei de senescenţă este încă o dovadă a importanţei acestor organite (uzine energetice) în aceste procese. *Ambele procese însă* conduc la pierderea homeostaziei, ceea ce provoacă moartea unei celule, a unui grup de celule sau ale organismului ca întreg.

Datorită importanţei economice a senescenţei s-au efectuat numerose cercetări pentru întârzirea sa, folosind tratamente hormonale ale plantelor ca întreg, ale unor organe ale plantelor sau a organelor detaşate de plantă, practică frecventă postrecoltare.

După Leopold (1961) senescenţa este de 4 tipuri:

1) Senescenţa totală la plantele anuale, unde toate părţile aeriene devin senescente şi întreaga plantă moare, după parcurgerea fazei reproductive. Senescenţa apare mai întâi la flori, fructe, frunze şi în cele din urmă la rădăcini.
2) Senescenţa părţii superioare apare în părţile aeriene, iar părţile subterane rămân dorminde în perioade nefavorabile (când devin senescente părţile supraterane). În perioade favorabile, aceste tulpini/rădăcini dorminde dau prin înmugurire noi plante. Este tipul de senescenţă comun plantelor perene.
3) Senescenţa plantelor lemnoase are loc numai în frunzele plantelor, iar aceasta ajută simultan planta să reziste condiţiilor nefavorabile, prin minimizarea transpiraţiei şi competiţiei pentru nutrienţi.
4) Senescenţa progresivă este una graduală, care apare întâi la frunzele bătrâne, în continuare la noile frunze, apoi la tulpină şi în final la sistemul radicular.

În privinţa necanismului senescenţei au fost propuse **trei teorii**:

1) ► *Teoria nutriţională* a fost propusă de Molisch în 1928. Se consideră că deficienţa nutriţională este cauza senescenţei. Fructele şi apexurile în creştere sunt utilizatori marcanţi de nutrienţi. Eliminarea fructelor, seminţelor sau vârfurilor tinere asigură mai mulţi nutrienţi frunzelor şi întârzie senescenţa. Dar, teoria nu este universal valabilă. Senescenţa nu poate fi întârziată la plante anuale cu fructe, prin aplicarea de îngrăşăminte.
2) ► *Teoria hormonală* consideră implicarea acidului abscisic şi al etilenei. Nooden şi Leopold (1978) au propus termenul de „hormonul morţii”, pentru agentul cauzal al senescenţei. Poate fi un produs chimic al seminţelor în curs de dezvoltare, care se translocă prin xilem, către părţile vegetative, la specii monocarpice. Ar fi ceva diferit de etilenă şi acid abscisic. De altfel, nu a fost detectat un astfel de compus. Au fost însă izolate trei substanţe:

acidul 4 clor indol acetic; 4 clor acetil aspartat mono etil ester şi acidul jasmonic, care ar putea acţiona ca hormoni ai morţii. De asemenea, deficienţa în auxine şi citochinine poate induce senescenţa. *Senescenţa este rezultatul alterării balanţei hormonale, care previne genele să continue codificarea aceloraşi enzime, aşa cum era situaţia la celulele mai tinere*.

3) ► *Teoria exudării de enzime hidrolitice de către vacuole.* Pierderea progresivă a semipermeabilităţii bistratului lipidic al tonoplastului are ca efect scurgerea de substanţe şi pierderea funcţionalităţii membranelor. Ruperea tonoplastului eliberează enzimele hidrolitice, care digeră materiale celulare, asemenea lizozomilor celulelor animale.

Abscisia *este procesul fiziologic de detaşare a unui organ multicelular* (frunze, flori, fructe) *de planta mamă*. Abscisia urmează fazei finale a senescenţei şi reprezintă ultima fază a vieţii organului.

Din punct de vedere *morfologic* şi *anatomic*, la joncţiunea organului cu „corpul" plantei se formează o zonă de separaţie (abscisie): la frunze, la baza peţiolului, la nod; la frunze compuse, la joncţiunea pulvinulilor şi la ţesuturile suport. Înainte de abscisie frunzele pot fi fie galbene, fie moarte. Zona de abscisie este formată din 1,2 rânduri de celule sau mai multe celule parenchimatice: fără lignină şi suberină; cu protoplasma densă; mult amidon; spaţii mici intercelulare şi plasmodesme puternic ramificate. Lamela mediană se dizolvă şi conectarea se mai face slab prin ţesutul vascular, urmând ca şi acesta să se rupă. După abscisie, stratul extern de celule, tulpina sau ramura formează un strat protector, prin dezvoltarea peridermului, respectiv a celulelor suberificate. În vasele conducătoare se formează tiloze pentru blocaj. Din punct de vedere *biochimic*, se intensifică producerea enzimelor hidrolitice (celulaze, enzime pectice etc.). Pectaţii de calciu din lamela mediană sunt hidrolizaţi la acid pectic şi pectină solubilă în apă. Creşte activitatea peroxidazei, ceea ce determină distrugerea auxinei. Auxina şi citochinina întârzie abscisia, în timp ce acidul abscisic şi etilena accelerează procesul.

Moartea este o consecinţă firească a vieţii şi intervine atunci când metabolismul încetează.

9.7. Factorii care influenţează creşterea şi dezvoltarea plantelor

9.7.1. Factorii externi care influenţează creşterea şi dezvoltarea plantelor

Procesul de creştere şi dezvoltare a plantelor este influenţat de numeroşi factori externi (temperatură, lumină, umiditate, gravitaţie, electricitate, magnetism, substanţe minerale din sol, oxigenul din sol, etc.), precum şi de factori interni, dintre care cele mai semnificative efecte sunt date de hormonii vegetali.

Temperatura influenţează creşterea plantelor în mod diferenţiat, prin *punctele cardinale de creştere* (minim, optim şi maxim) specifice fiecărei specii de plante.

Răspunsul plantelor la acţiunea temperaturii este denumit *termomorfogeneză*.

Răspunsul plantelor faţă de variaţiile de temperatură se supune legii lui Van' t Hoff. Dacă temperatura creşte cu 10^oC (în intervalul 5^oC-35^oC), rata creşterii se măreşte de 2-3 ori.

Temperatura la care se înregistrează cea mai intensă rată de creştere se denumeşte temperatură optimă, iar cea la care începe procesul se numeşte temperatură minimă. Valorile acestor temperaturi sunt diferite în raport cu genotipul, probabil datorită diferenţelor în ceea ce priveşte Q_{10} de temperatură a unor enzime sau din cauza intensificării sau scăderii sintezei sau activităţii acestora. În general, temperaturile mai mari de 30^oC reduc rata creşterii. *Temperaturile aşa numite cardinale* (**minim, optim şi maxim**) nu sunt constante, ci se modifică odată cu vârsta plantei. Se consideră că ar exista la fiecare specie un aşa numit **optimum armonic de temperatură**, la care toate funcţiile fiziologice decurg cu maximum de intensitate.

Pentru o anumită specie, cerinţa pentru temperatură poate fi exprimată prin constanta termică vegetativă. Aceasta reprezintă suma temperaturilor medii zilnice de pe parcursul perioadei de vegetaţie. Spre exemplu: constanta termică vegetativă la cartof este 1300-3000^oC, la porumb 2370-3000^oC, iar la grâul de toamnă 2560-3000^oC (Şebanek, 1992).

Un rol deosebit în modificarea ritmului de creştere îl prezintă *schimbările de temperatură de la zi, la noapte.* Astfel, la unele specii care îşi au originea în zonele temperate, procesele de creştere sunt cu atât mai intense, cu cât diferenţa de temperatură de la zi, la noapte este mai mare. De exemplu: *la tomate* se realizează o creştere normală, dacă diferenţa de temperatură de la zi, la noapte este de minim 7^oC, respectiv circa 25^oC ziua şi circa 18^oC noaptea.

Diferenţa dintre temperatura zilei (DT) şi temperatura nopţii (NT) (definită ca DT minus NT = DIF) influenţează puternic lungimea internodiilor şi înălţimea plantei (Moe şi Heins, 1990). Plantele crescute în condiţii de DT>NT sunt mai înalte la maturitate, decît cele crescute la DT<NT.

În privinţa termomorfogenezei, din multe puncte de vedere există asemănări cu fotomorfogeneza, respectiv:

- lumină roşie (P_r/P_{fr} >) = DT < NT;
- lumină roşu îndepărtat (P_r/P_{fr} <) = DT > NT.

Lumina este un factor reglator al creşterii şi dezvoltării plantelor (Briggs şi al., 1996). Ea influenţează procesul de creştere prin intensitatea sa (fiind cunoscute plante fotofile şi ombrofile), prin durata sa de acţiune (spre exemplu plantele sunt adaptate la condiţii de zi scurtă sau de zi lungă, în funcţie de originea lor geografică), cât şi prin compoziţia sa spectrală.

Răspunsul plantelor la acţiunea luminii este denumit *fotomorfogeneză.*

Seminţele de salată (*Lactuca sativa*) sunt sensibile la anumite lungimi de undă pe parcursul procesului de germinaţie. Astfel, ele germinează după iluminare cu lumină roşie - R- 660 nm, dar nu germinează după iluminare cu lumină roşu îndepărtat-FR-730 nm. Efectele luminii roşii şi roşu îndepărtat s-au găsit a fi reversibile, iar efectul total este dependent de tipul ultimei iluminări. S-a emis ipoteza că aceste reacţii sunt mediate de *fitocrom*, cu cele două forme structurale diferite cunoscute (P_r - P_{660} şi P_{fr} - P_{730}) şi care se pot transforma una în cealaltă, după iluminare cu o anumită lungime de undă.

La plantele neiluminate, fitocromul este prezent sub forma P_r. Această formă este transformată de lumina roşie, la forma care absoarbe lumina roşu-îndepărtat, deci P_{fr}. La rândul său, forma P_{fr}, poate fi transformată înapoi la P_r, prin intermediul luminii roşu-îndepărtat.

Cercetările au demonstrat că în cele mai multe cazuri, forma fiziologic activă a fitocromului este P_{fr}, iar în situaţia în care nu s-a găsit o relaţie directă, a unui răspuns, cu cantitatea de P_{fr}, s-a considerat ca fiind determinant raportul P_{fr}/ P_r. De asemenea, în privinţa proporţiei fitocromilor, dacă umbrirea creşte, scade raportul P_{fr}/P_{total}. Prin simularea radiaţiilor naturale (cu modificarea conţinutului în P_r) s-a demonstrat că, cu cât este mai mare conţinutul în P_r (respectiv dacă este mai mic P_{fr}/P_{total}), cu atât rata extensiei tulpinii este mai mare la plantele de plin soare (Morgan şi Smith, 1979). Nu doar lumina este factorul care reglează apariţia şi dispariţia P_{fr}, ci P_{fr} trece spontan în P_r la întuneric, proces denumit reversia la întuneric.

Privitor la **mecanismul de acţiune** s-a demonstrat că sinteza şi activitatea a numeroase enzime se află sub controlul fitocromului. După iluminare cu lumină roşie, creşte cantitatea totală de ARN şi în special cea de ARN_m. De asemenea, au loc foarte rapid modificări ale plasmalemei (modificarea proprietăţilor electrice, a potenţialului membranal), probabil şi datorită modificărilor structurale ale plasmalemei, în legătură cu fitocromul aflat în relaţie cu aceasta. De altfel, localizarea fitocromului pare a fi cu precădere în regiunile meristematice, sau zone care au fost nu demult meristematice (ex. muguri, vârful coleoptilului). La nivel celular, s-a găsit a fi localizat atât în citosol, cât şi asociat organitelor, inclusiv plastidelor şi nucleului.

Pe lângă procesul de germinare a seminţelor, *lumina influenţează de asemenea procesul de creştere a organelor plantelor*.

Astfel, lumina roşie stimulează creşterea tulpinii, dar înhibă creşterea limbului foliar. În cazul acţiunii luminii ultraviolete, creşterea tulpinii este mai redusă (nanism). Explicaţia pare a fi dată de acţiunea fotooxidativă a radiaţiilor ultraviolete asupra auxinei, hormon stimulator de creştere şi favorizarea biosintezei acidului abscisic, care este un hormon ce înhibă creşterea.

În privinţa intensităţii luminii, dacă plantele fotofile sunt crescute în condiţii de lumină insuficientă are loc alungirea exagerată a tulpinii, asociată cu dezvoltarea insuficientă a ţesutului mecanic şi a frunzelor (care au un conţinut redus de clorofilă), iar fenomenul se denumeşte *etiolare*.

Dimpotrivă, plantele crescute în condiţii de iluminare optimă au tulpini viguroase, frunze colorate intens în verde şi dimensiunea lor este apreciabilă.

Cercetările efectuate de Moe şi Heins (1990) au reliefat că în general lumina roşie (R) sau cea caracterizată printr-un raport mare al P_r/P_{fr} (ex. lămpile fluorescente), aplicată ca metodă de prelungire a zilei sau pentru întreruperea nopţii (NI) blochează elongaţia tulpinii şi induce ramificarea laterală. Lumina FR sau cea cu un raport mic al P_r/P_{fr} (ex. lămpile incandescente) activează puternic elongaţia tulpinii şi înhibă ramificarea laterală.

Ca urmare, lumina are un rol deosebit în procesul denumit fotomorfogeneză.

Cunoştinţele în domeniu permit dirijarea procesului de creştere a plantelor, prin aplicarea tehnologiilor corespunzătoare de cultură, în funcţie de scopul urmărit.

În *practica horticolă* spre exemplu, unele legume precum sparanghel, revent, ţelină se păstrează în biloane de pământ, pentru a asigura o turgescenţă ridicată a celulelor şi frăgezirea ţesuturilor îngropate. La plantele din răsadniţe, ritmul de creştere şi implicit gradul de vigurozitate poate fi dirijat, prin modificarea regimului de iluminare (fie prin ridicarea ferestrelor, fie prin stropirea geamurilor cu var).

Lămpile incandescente (P_{fr}) şi fluorescente (P_r) au efect aproape egal în promovarea înfloririi la unele plante de zi lungă (LDP). Totuşi, lămpile incandescente nu pot fi recomandate ca propice pentru iluminarea fotoperiodică în vederea inducţiei înfloririi la plantele LDP, dacă se doresc a fi compacte, bine ramificate. Se pot folosi lămpi care asigură un raport P_r/P_{fr} >.

9.7.2. Hormonii vegetali şi rolul lor în creşterea şi dezvoltarea plantelor

Termenul de **hormon** a fost introdus în fiziologia plantelor în anul 1910 de către Fitting. Asemenea hormonilor animali, hormonul vegetal s-a definit ca fiind un compus organic sintetizat într-o anumită parte a plantei şi translocat într-o altă parte, unde în concentraţii foarte mici provoacă un răspuns fiziologic. Denumirea de hormon vegetal sau fitohormon a fost stabilită de un grup de cercetători preocupaţi de reglarea chimică a creşterii şi dezvoltării plantelor, în frunte cu Dr. Thimann, în anul 1948 (van Overbeek şi al., 1954).

Hormonii vegetali includ substanţe care stimulează creşterea, dar şi substanţe care întârzie astfel de procese.

Trebuie făcută distincţia între *hormonii de creştere* şi *regulatorii de creştere*.

În categoria regulatorilor de creştere sunt cuprinse substanţe naturale, dar si substanţe sintetice, caracterizate printr-o activitate hormonală. În categoria hormonilor de creştere sunt cuprinse doar substanţele produse în mod natural în plante şi care se caracterizează prin activitate hormonală.

Prin urmare, toţi hormonii de creştere sunt regulatori de creştere, în schimb, nu toţi regulatorii de creştere sunt hormoni de creştere.

9.7.2. 1. Mecanismul general de acţiune a hormonilor vegetali

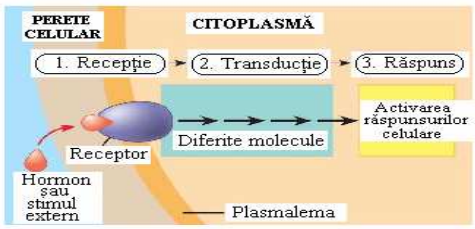


Fig. 9.45. Căi de transducţie a semnalelor la plante

În primul rând, pentru ca un hormon să acţioneze trebuie să fie prezent în cantitate suficientă în celule.

În al doilea rând, hormonul trebuie recunoscut şi legat specific de proteine, denumite proteine receptor.

În al treilea rând, proteina receptor trebuie să sufere anumite modificări metabolice, care să permită amplificarea semnalului hormonal sau mesagerului (*fig.9.45.*).

Curba doză-răspuns pentru hormonii cunoscuţi se prezintă aşa cum se observă în *figura 9.46.*

Referitor la mecanismul de acţiune, conform celor două clase generale de hormoni din sistemele animale (hormoni steroidici şi peptidici), ambele regăsindu-se probabil şi în sistemele vegtale sunt descrise două moduri de acţiune (*fig.9.47.*).

Clasa steroizilor formează un complex hormon/receptor în citoplasmă, care apoi este transportat în nucleu, unde este sintetizat ARNm, rezultând un anume răspuns. Pentru a doua clasă, legătura hormon- receptor are loc la nivelul plasmalemei, are loc modificarea enzimei adenilat ciclază şi activarea AMP ciclic din ATP, urmând a acţiona ca un mesager secundar pentru un anume răspuns.

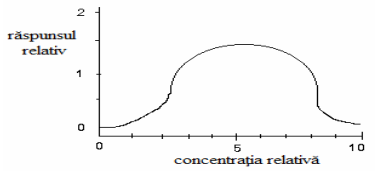


Fig. 9.46. Curba doză - răspuns

9.7.2.2. Principalele clase de hormoni vegetali şi funcţiile acestora

Principalele clase de hormoni vegetali descrise în literatura de specialitate sunt: *auxine, gibereline, citochinine, etilena, acidul abscisic*, *acidul jasmonic* şi *brassinolide* (*tabelul 9.4.*).

În literatura de specialitate hormonii vegetali sunt clasificaţi ca:

► *hormoni primari*: auxine, gibereline, citochinine, acid abscisic, etilenă;

► *hormoni secundari*: acidul jasmonic, brassinosteroizii, juglona, acidul salicilic, poliaminele;

► *alţi hormoni*: hormonii peptidici, oligozaharide, fosfolipide, ARNm sau proteine;

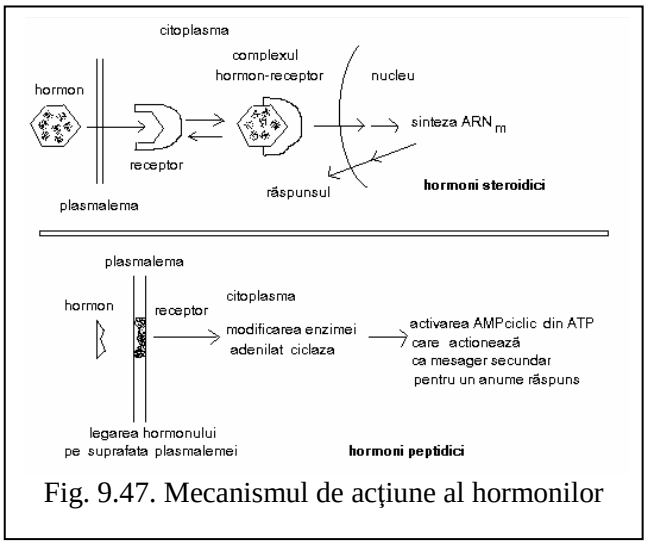


Fig. 9.47. Mecanismul de acţiune al hormonilor

Astfel, *poliaminele* şi *turgorinele* pot fi considerate substanţe cu rol de reglare a creşterii plantelor.

Dacă până în 1991 hormonii polipetidici şi feromonii s-a crezut că se găsesc numai în animale şi drojdii, iar plantele nu emit sisteme semnal care includ semnale polipeptidice, astăzi, polipeptidele sunt catalogate ca o nouă clasă de hormoni. În 1991 a fost descoperit un polipeptid alcătuit din 18 aminoacizi (hormon cu rol de apărare), respectiv sistemin, precum şi precursorul său, prosistemin, în frunzele de tomate (Ryan şi Pearce, 2001).

Sisteminul din tomate a fost primul polipeptid semnal identificat în plante, în cursul unor cercetări privind agentul chimic responsabil pentru inducţia sistemică a înhibitorilor proteinazei în frunzele tomatelor. Componentele active s-au găsit a fi reprezentate de fragmente oligogalacturonice derivate din pereţii celulari ai celulelor plantelor.

De asemenea, s-a găsit că oligogalacturonidele pot activa sinteza fitoalexinelor, substanţe chimice cu rol defensiv. Codificarea genetică pentru sistemine s-a efectuat la cartof, ardei, dar nu la tomate. În ciuda diferenţelor structurale dintre polipeptidele semnal defensive, s-a propus ca polipeptidele derivate din plante, care semnalizează genele defensive local sau sistemic să fie denumite *sistemine.*

Fitosulfokinele reprezintă o nouă clasă de hormoni polipeptidici care reglează diviziunea celulară, fiind purificate şi caracterizate în suspensia de celule de asparagus. S-a găsit că acestea promovează organogeneza în rădăcini, muguri şi embrioni la diferite specii de plante.

Tabelul 9.4.

Principalii hormoni vegetali – structură şi funcţii

Nr. crt.	Hormonul vegetal	Structură	Funcţii principale
1.	**Auxina** (acidul 3-indolil-acetic) reprezintă *primul hormon vegetal descoperit la sfârşitul secolului al XIX-lea*, în urma studiilor lui Charles Darwin şi ale fiului său Francis asupra creşterii plantelor, în special asupra creşterii plantelor către lumină (fenomen cauzat de o creştere asimetrică şi denumit fototropism).	Natura chimică a auxinei, ca acid 3-indolil-acetic (IAA) a fost descrisă de Kogl şi al. (1931). Este sintetizat din indol sau triptofan. Promovarea creşterii intervine la concentraţii molare de 10^{-3} până la 10^{-8}. Astăzi, sunt cunoscute de asemenea şi un număr de auxine sintetice: acidul α - naftil acetic (NAA), acidul indolil-3- butiric (IBA), acidul 2,4- diclorfenoxiacetic (2,4-D) etc.	- elongaţia celulară (concentraţia optimă pentru favorizarea procesului este de 10^{-5} la 10^{-6} M, iar concentraţiile supraoptimale pot avea efect înhibitor, urmare a producerii etilenei şi deci a înhibării creşterii prin elongaţie); - răspunsuri tropice (mişcări de creştere orientată precum fototropismul şi gravitropismul); - dominanţa apicală (înhibă creşterea mugurilor laterali, precum acţionează şi mugurele apical); - promovarea formării rădăcinii şi favorizarea formării rădăcinilor adventive; - stimularea diviziunii celulare, a activităţii cambiale la altoire şi vindecarea rănilor la plante; - creşterea fructelor; - producerea fructelor în absenţa seminţelor viabile – partenocarpia; - întârzierea căderii premature a fructelor, abscisiei frunzelor şi promovarea producerii etilenei; - iniţierea înfloririi şi expresia sexelor; - auxina ca erbicid etc.
2.	**Giberelinele** au fost descoperite în anul 1926 în Japonia de către fitopatologul Kurosawa, ca produs al ciupercii *Giberella fujikuroi* (stadiul perfect) sau *Fusarium moniliforme* (forma asexuată), care produce boala –„foolish seedling” la orez (plantele cresc înalte, dar nu produc seminţe).	Aparţin unui grup de compuşi naturali numiţi terpenoizi. Sunt de fapt diterpene ciclice, rezultate prin condensarea a patru unităţi izoprenice cu 5 C. Precursorul apropiat este o diterpenă, care conţine 4 unităţi izopren. Calea de biosinteză este cea a acidului mevalonic. Până la GA_{12} - aldehidă, fiecare treaptă este asemnătoare la toate plantele. De la acest moment, la diferite specii de plante sunt utilizate căi diferite, pentru formarea a peste 100 gibereline cunoscute până acum.	- favorizează fie elongaţia celulară, fie diviziunea celulară, fie ambele procese; - inducerea procesului de legare a fructelor, inclusiv promovarea partenocarpiei şi efecte asupra diferenţierii sexelor; - înflorirea şi pigmentarea florilor; - mobilizarea compuşilor organici de rezervă, efecte asupra germinării seminţelor şi dormanţei; - prevenirea senescenţei etc.
3.	**Citochininele** sunt derivaţi purinici, descoperiţi în urma studiilor cu privire la	Citochininele pot fi naturale sau sintetice. Din punct de vedere structural, baza citochininelor o reprezintă adenina (aminopurină), cu lanţul lateral legat de o	- diviziunea celulară; - elongaţia celulară; - regenerarea *in vitro* şi formarea organelor;

	factorii care stimulează nutriţia şi regenerarea culturilor de ţesuturi vegetale.	grupare NH_2 în poziţia 6. Alte substanţe cu acţiune citochininică au o structură complet diferită, aşa cum sunt derivaţii ureei (ex. difenilureea).	- germinarea seminţelor, creşterea celulelor şi morfogeneză; - întârzierea senescenţei; - promovarea translocării substanţelor etc.
4.	**Acidul abscisic (ABA)** a fost descoperit ca un înhibitor de creştere, cu rol deosebit în dormanţa seminţelor şi mugurilor. Este considerat un hormon de stres (indus de lipsa apei, soluri saline, temperaturi joase şi îngheţ).	Este alcătuit din trei unităţi izoprenice (15C). Prin urmare, este un terpenoid,cu strânse legături cu carotenoizii. Biosinteza sa se realizează pe două căi alternative: fie pe o cale directă, din acidul mevalonic, fie o cale indirectă, care implică ruperea unui precursor carotenoid, alcătuit din 40 atomi de carbon.	- inducţia dormanţei seminţelor şi mugurilor; - abscisia; - hormon de stres; - efecte asupra înfloririi plantelor etc.
5.	**Etilena** *reprezintă singurul hormon vegetal de natură* ***gazoasă***, sintetizată în cantităţi mici de către plante şi care pare a coordona numeroase răspunsuri fiziologice şi morfologice ale plantelor	**Etilena** *(C_2H_4)* se sintetizează din S-adenozil-L-metionină, *pe calea acidului 1-aminociclopropan -1-carboxilic* (ACC). Enzimele care catalizează cele două reacţii sunt: ACC sintaza şi ACC oxidaza. Semnalele din mediu, cât şi cele endogene reglează biosinteza, în principal prin expresia diferenţiată a genelor ACC sintazei, care reprezintă enzima cheie responsabilă de reglarea producerii etilenei.	- maturarea fructelor; - senescenţa la plante; - înflorirea şi expresia sexelor; - factor de stres; - abscisia frunzelor şi fructelor etc.
6.	**Brassinosteroizii** (brassinolidele) sunt steroizi izolaţi din grăunciorii de polen ai plantelor de rapiţă. Astăzi, se cunosc a fi prezenţi şi în alte specii.	Deşi biosinteza lor nu a fost pe deplin elucidată, toţi brassinoizii naturali sunt cunoscuţi a fi derivaţi ai 5α-cholestanului. Din punct de vedere chimic, sunt similari hormonilor steroizi animali. Există aceleaşi gene, care codifică sinteza steroizilor.	- *consideraţi ca având efecte pleiotrope* (influenţează creşterea plantelor, germinarea seminţelor, rizogeneza, înflorirea şi senescenţa); - acţionează atât în modificarea metabolismului plantei, cât şi în protejarea faţă de factorii de stres; - acţionează în general în relaţie cu alţi hormoni (unul dintre cele mai importante efecte pare a fi relaţia strânsă cu IAA, cu care acţionează sinergic) etc.
7.	**Acidul salicilic (SA) reprezintă o importantă moleculă semnal în plante**. Este un *compus fenolic, implicat în procesul inducerii rezistenţei sistemice dobândite* (SAR) împotriva unui spectru larg de agenţi patogeni (ciuperci, bacterii şi virusuri).	Studiile efectuate au indicat faptul că acidul salicilic provine din fenilalanină, pe calea acidului cinamic şi acidului benzoic. Cercetările recente au precizat că procesul de sinteză a SA urmează calea izocorismat.	- *este implicat în realizarea reacţiei de hipersenzitivitate* (HR), adică aceea restricţionare a infecţiei patogenului, la nivelul unei suprafeţe mici, în jurul punctului iniţial de penetrare şi apariţia unei leziuni necrotice şi respectiv inducţia morţii celulare programate (PCD) etc.
8.	**Acidul jasmonic** (JA) *şi alte structuri derivate precum metil jasmonatul* (MeJA) *sunt substanţe cu*	Sinteza jasmonaţilor se realizează din acidul linolenic, care este oxidat de către lipoxigenază (LOX), cu formare de acid 13-hidroperoxilinolenic	- reglează răspunsurile de apărare ale plantei faţă de stresul biotic (anumiţi patogeni şi insecte), dar controlează şi procese de dezvoltare etc.

	funcţii semnal derivate din lipide		
9.	**Poliaminele** sunt *compuşi organici cu azot, cationici, cu greutatea moleculară mică*. Cele mai răspândite poliamine în plante sunt *putresceină* (diamină) (1,4-diaminobutan), *spermidină* (triamină) (4-azaoctan-1,8-diamină) şi *spermină* (tetraamină) (4,9-diazadodecan-1,12-diamină).	În timp ce biosinteza poliaminelor la multe organisme este iniţiată prin decarboxilarea ornitinei (Orn) cu formarea putresceinei pe calea Orn decarboxilazei (ODC), plantele şi multe microorganisme pot genera putresceina din arginină (Arg), pe calea Arg decarboxilazei (ADC) şi agmatin ureohidrolazei sau agmatin iminohidrolazei	- sunt implicate în numeroase procese ale reglării senescenţei şi morfogenezei, precum şi în răspunsul la acţiunea factorilor de stres

Întrebări

1. Creşterea şi dezvoltarea plantelor: definiţii şi aspecte generale.
2. Care sunt etapele creşterii celulare ?
3. Cum se explică elongaţia celulară ?
4. Precizaţi principalele particularităţi ale creşterii organelor plantelor.
5. Care este mecanismul general de realizare a mişcărilor de creştere la plante ?
6. Precizaţi tipurile de mişcări ale plantelor fixate în sol, explicaţi mecanismul specific de realizare a acestora şi importanţa biologică.
7. Precizaţi principiile de bază ale formării florilor.
8. Ce reprezintă fotoperiodismul ? Daţi exemple de plante fotoperiodic senzitive.
9. Cum explicaţi implicarea fitocromului şi „florigenului" în fotoperiodism.
10. Ce reprezintă vernalizarea ? Exemple.
11. Ce sunt hormonii vegetali şi care este mecanismul general de acţiune al acestora ?
12. Precizaţi principalele tipuri de hormoni vegetali şi rolul lor fiziologic.

Bibliografie selectivă

Asin, L. și Vilardell, P. 2006. Effect of paclobutrazol and prohexadione-calcium on shoot growth rate and growth control in Blanquilla and Conference pear. Acta Horticulturae, Vol. 727: 133-138.

Bergmann, D.C. 2004. Integrating signals in stomatal development. Current Opinion in Plant Biology, Vol. 7: 26- 32.

Bünning, E. 1973. The Physiological Clock, Third edition, London.

Costa, S. și Shaw, P. 2007. Open minded cells: how celll can change fate. Trends in Cell Biology, Vol. 17: 101- 106.

Darwin, C. 1880. Power of movement in Plants (John Murray: London).

Distelfeld, A., Li, C., Dubeovsky, J. 2009. Regulation of flowering in temperate cereals. Current Opinion in Plant Biology, Vol. 12: 178-184.

Gallangher, S. şi al. 1988. Light induced changes in proteins found associated with plasma membrane fractions from pea stem sections. Proc. Natl. Acad. Sci., Vol. 85: 8003 – 8007.

Gowda, V.N. și al. 2006. Influence of GA_3 on growth and development of Thompson seedless grapes (*Vitis vinifera* L.). Acta Horticulturae, Vol. 727: 239- 242.

Greene, D.W. 2006. Effect of auxin inhibitors on fruit growth and fruit set of McIntosh, Delicious and Golden Delicious apples. Acta Horticulturae, Vol. 727: 225- 262.

Kidner, C.A. 2010. The many roles of small RNAs in leaf development. J. Genet. Genomics, Vol. 37: 13-21.

Liscum, E. şi Reed, J.W. 2002. Genetics of Aux/IAA and ARF action in plant growth and development. Mol. Biol., Vol.49: 387 – 400.

Mathews, S. 2010. Evolutionary studies illuminate the structural-functional model of plant phytocromes. The Plant Cell, Vol.22: 4-16.

Minorsky, P.V. 2002. No role for actin in stem gravitropism. Plant Physiology, Vol. 128: 325- 326.

Minorsky, P.V. 2002. Trigonelline: A diverse regulator in plants. Plant Physiology, Vol. 128: 7- 8.

Ohmori, S., Kimizu, M., Sugita, M., Miyao, A., Hirochika, H., Uchida, E., Nagato, Y., Yoshida, H. 2009. MOSAIC FLORAL ORGANS1, an AGL6-like MADS box gene, regulates floral organ identity amd meristem fate in rice. The Plant Cell, Vol. 21: 3008-3025.

Peterson, K.M., Rychel, A.L., Torii, K.U. 2010. Out of the mouths of plants: the molecular basis of the evolution and diversity of stomatal development. The Plant Cell, Vol.22: 296-306.

Rameau, C. 2010. Strigolactonees, a novel class of plant hormone controlling shoot branching. Comptes Rendus Biologies. Vol.338: 344-349.

Rodrigues, T.M. și Machadoa, S.R. 2008. Pulvinus functional traits in relation to leaf movements: A light and transmission electron microscopy study of the vascular system. Micron, Vol. 39: 7-16.

Sachs (von), J. 1887. Lectures on the Physiology of Plants (Clarendon: Oxford).

Sharma, V.K. și Fletcher, J.C. 2002. Maintenance of shoot and floral meristem cell proliferation and fate. Plant Physiology, Vol. 129: 31- 39.

Shimizu- Sato, S și Mori, H. 2001. Control of outgrowth and dormancy in axilary buds. Plant Physiology, Vol. 127: 1405- 1413.

Ueda, M. şi al. 2001. Molecular approach to the nyctinastic movement of the plant controlled by a biological clock. Int. J. Mol. Sci., Vol. 2: 156 – 164.

Vrebalov, J., Pan, I.L., Arroyo, A.J.M., McQuinn, R., Chung, M., Poole, M., Rose, J., Seymour, G., Grandillo, S., Giovannoni, J., Irish, V.F. 2009. Fleshy fruit expansion and ripening are regulated by the tomato SHATTERPROOF gene TAGL1. The plant Cell, Vol.21: 3041-3062.

Zeevaart, J.A.D. 2006. Florigen coming of age after 70 years. The Plant Cell, Vol.18: 1783-1789.

CAPITOLUL 10

DORMANȚA SAU STAREA DE REPAUS LA PLANTE

Cuvinte cheie: *ecodormanţa, paradormanţa, endodormanţa, dormanţa plantei întregi, dormanţa mugurilor, dormanţa seminţelor*

Obiective:

● definirea dormanţei şi înţelegerea mecanismului general al dormanţei la plante;

● cunoaşterea diferitelor tipuri de dormanţă la plante, precum şi a factorilor care controlează inducţia, menţinerea şi ieşirea din dormanţă;

REZUMAT

Dormanța sau starea de repaus la plante reprezintă o stare de adaptare la condițiile nefavorabile de mediu, fixată pe cale ereditară. Ea se caracterizează prin suspendarea temporară a creșterilor vizibile ale structurilor plantei care conțin un meristem și prin diminuarea intensității proceselor fiziologice. Starea de dormanţă se poate instala la planta întreagă, la muguri şi la embrioni. Se disting trei tipuri de dormanţă: ecodormanţa, paradormanţa şi endodormanţa. În privinţa mecanismului fiziologic al dormanţei, concepția clasică susține că rolul principal revine hormonilo. Școala franceză de fiziologie consideră că dormanța este controlată genetic. Controlul genetic implică prelucrarea semnalelor din mediul ambiant, transformări moleculare și modificări celulare, care în cele din urmă conduc la transformări fiziologice. La plantele lemnoase, dormanţa se instalează la toate organele perene, dar mai întâi la muguri, apoi la trunchi, ramuri şi în cele din urmă la rădăcină, cu efecte specifice asupra proceselor fiziologice şi efecte la nivel celular. Toamna, momentul care marchează intrarea în dormanţă este cel al căderii frunzelor. Intensitatea maximă a procesului se înregistrează însă la circa o săptămână, până la o lună după căderea frunzelor. Plantele perene, precum pomii din zonele temperate se deosebesc de alte plante, prin capacitatea de a-și suspenda și relua creșterile în mod repetat, ca un mecanism de răspuns la factorii de mediu și condițiile datorate sezoanelor. Perenitatea necesită cel puțin un meristem cu creștere nedeterminată, care continuă creșterea în sezonul următor. Inițierea, menținerea și eliberarea din dormanță a mugurilor implică interacțiunea factorilor genetici, chimici și de mediu. O sămânță în stare de dormanță este cea care nu are capacitatea de a germina într-o perioadă specifică de timp, în situația oricărei combinații a factorilor fizici normali de mediu, care sunt de altfel favorabili germinării acesteia, după ce sămânța devine non-dormindă. Având în vedere faptul că dormanța este determinată atât de factori morfologici, cât și de proprietățile fiziologice ale seminței, s-a propus un sistem de clasificare cuprinzător, care include cinci clase de dormanță: fiziologică, morfologică, morfo-fiziologică, fizică şi combinată (fizică-fiziologică). Germinarea semințelor reprezintă un complex de modificări morfologice, anatomice, fiziologice și biochimice, care permit trecerea embrionului de la starea de viață latentă din punct de vedere biologic, la starea de viață activă.

Dormanța sau *starea de repaus* la plante reprezintă o stare de adaptare la condițiile nefavorabile de mediu, fixată pe cale ereditară. Ea se caracterizează prin suspendarea temporară a creșterilor vizibile ale structurilor plantei care conțin un meristem și prin diminuarea intensității proceselor fiziologice (Lang, 1987). Dormanţa poate fi asociată cu diferite structuri ale plantei, care apar în momente diferite ale evoluţiei şi poate avea drept explicaţie adaptarea plantelor la diferite habitate şi la condiţii climatice variate (Shefferson, 2009).

Starea de dormanţă ***se poate instala***:

► la planta întreagă (ex. specii lemnoase, arbuşti);

► la muguri (ex. mugurii plantelor lemnoase; cazul unor organe subterane ale plantelor: ex. bulbi, rizomi, tuberculi);

► la embrioni (ex. semințe).

Dormanţa reprezintă un mecanism important, care asigură sincronizarea sezonieră a creşterii. De asemenea, ea are şi o importantă funcţie morfogenetică, contribuind la controlul arhitecturii plantei.

10.1 Tipuri de dormanţă, factori implicaţi şi mecanism fiziologic general

Tipuri de dormanţă şi factori implicaţi

Dormanța este cauzată de factori interni, precum și de factori externi. Pentru a face diferențierea între dormanța impusă de cele două categorii de factori, se poate utiliza următoarea clasificare :

● **dormanța forțată** – aflată sub *control exogen* (factori externi, precum aprovizionarea cu apă, temperatura, cerințe specifice față de lumină și alți factori de mediu cu caracter limitativ);

● **dormanța profundă** – aflată sub *control endogen* (factori interni, precum cei care previn creșterea, chiar dacă sunt favorabile condițiile de mediu).

Lang (1987) a propus termenul de dormanță și un sistem al terminologiei, care poate fi aplicat oricărei structuri a plantei, în raport cu factorul cauzal:

A) – **ecodormanța** – dormanța cauzată de unul sau mai mulți factori de mediu, care au un efect nespecific (la semințe, termenul este similar cu dormanța forțată);

B) – **paradormanța** – datorată factorilor fizici sau semnalelor biochimice de origine exogenă structurii afectate (ex. dominanța apicală; dormanţa datorată diferitelor structuri care înconjoară embrionul semințelor);

C) – **endodormanța** – reglată de factori fiziologici, din interiorul structurii respective (ex. dormanța profundă a mugurilor) (*fig.10.1.*).

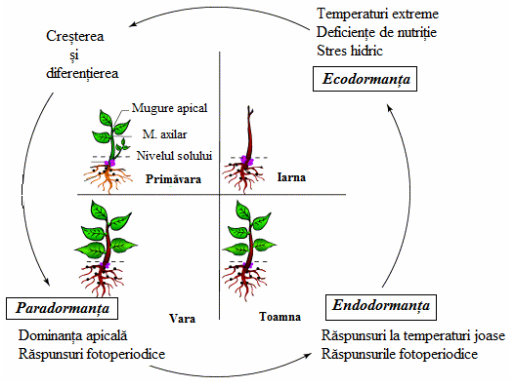


Fig. 10.1. Ciclul a trei tipuri de dormanţă, precum şi semnalele generale şi sezoanele asociate cu dormanţa buruienilor perene, plantelor lemnoase (arbuşti şi arbori), mugurilor tuberculilor

Ecodormanța este impusă de factorii externi de mediu, precum frigul sau stresul hidric, factori care induc semnale critice, care previn creșterea. Unul dintre aceste semnale cheie este acidul abscisic. Un set complex al semnalelor hormonale activate de către variați factori de mediu și condiții fiziologice este redat în *figura 10.2*.

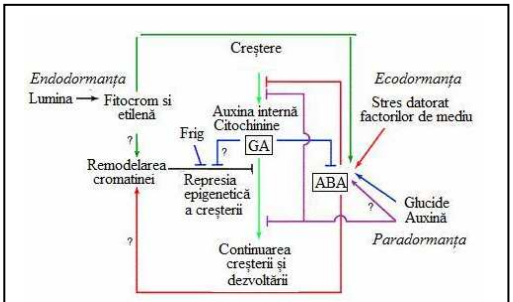


Fig. 10.2. Căile reglării dormanţei la plante
(după Horvath şi al., 2003)

Paradormanța este cel mai bine studiată și uneori se referă la dominanța apicală sau inhibiție corelativă. Este procesul care permite plantelor să aloce resurse pentru reproducere și să controleze arhitectura plantei, maximizând captarea luminii. Totodată, permite regenerarea, în situația în care intervin daune la tulpini individuale.

Endodormanța constituie rezultatul modificărilor fiziologice interne la nivelul mugurelui, prevenind creșterea pe parcursul tranziției sezoanelor, când condițiile de mediu sunt adesea fluctuante, între ceea ce permite sau inhibă creșterea. Este un mecanism important pentru protecția mugurilor vegetativi, asigurând neînceperea creșterii la nivelul meristemelor, până când nu au revenit condițiile permisive stabile.

Semnalele respective interacționează în procesul de reglare a fazelor specifice ale diviziunii celulare și dezvoltării. Etilena și fitocromul joacă un rol semnificativ în endodormanță. Auxina are un rol deosebit în paradormanță. Acidul abscisic, acidul giberelic și citochininele par a juca roluri semnificative, dar antagoniste, în toate cele trei tipuri de dormanță. Se remarcă de asemenea faptul că acidul abscisic, acidul giberelic, auxina și citochinina au roluri definite în reglarea componentelor specifice ale mecanismului de reglare a ciclului celular.

Asemănările existente în privinţa semnalelor din mediu care reglează inducţia endodormanţei şi ieşirea din dormanţă, respectiv a celor care reglează înflorirea şi vernalizarea au reprezentat primele indicii cu privire la conexiunile mecanismelor de semnalizare pentru aceste procese (Horvat, 2009).

Mecanismul fiziologic al dormanţei

Concepția clasică susține că rolul principal revine hormonilor. După descoperirea acidului abscisic (ABA) în semințe (Milborrow, 1968) s-a precizat că acesta este un inhibitor de creștere și respectiv un stimulator al intrării în dormanță. Substanța se acumulează în țesuturile plantelor din zonele temperate, expuse la fotoperioade scurte și temperaturi coborâte.

Școala franceză de fiziologie consideră că dormanța este controlată genetic şi în acest sens au fost identificate gene specifice. După Martin (1991), controlul genetic implică prelucrarea semnalelor din mediul ambiant, transformări moleculare și modificări celulare, care în cele din urmă conduc la transformări fiziologice. Implicarea factorilor de mediu şi efectele ulterioare sunt redate in *figura 10.3.*

Controlul transcripţiei poate avea un rol cheie în reglarea răspunsurilor fiziologice, care caracterizează fazele distincte ale ciclului celular: activitate - dormanţă. Represia expresiei ciclinelor de către semnalul zilelor scurte reprezintă un mecanism cheie al inducerii suspendării creşterii. Astfel, semnalele din mediu pot modula diferite aspecte ale ciclului celular (activitate – dormanţă), prin modularea nivelului hormonilor cheie, precum acidul abscisic şi acidul giberelic, acționând la nivelul transcripţiei (Karlberg şi al., 2010).

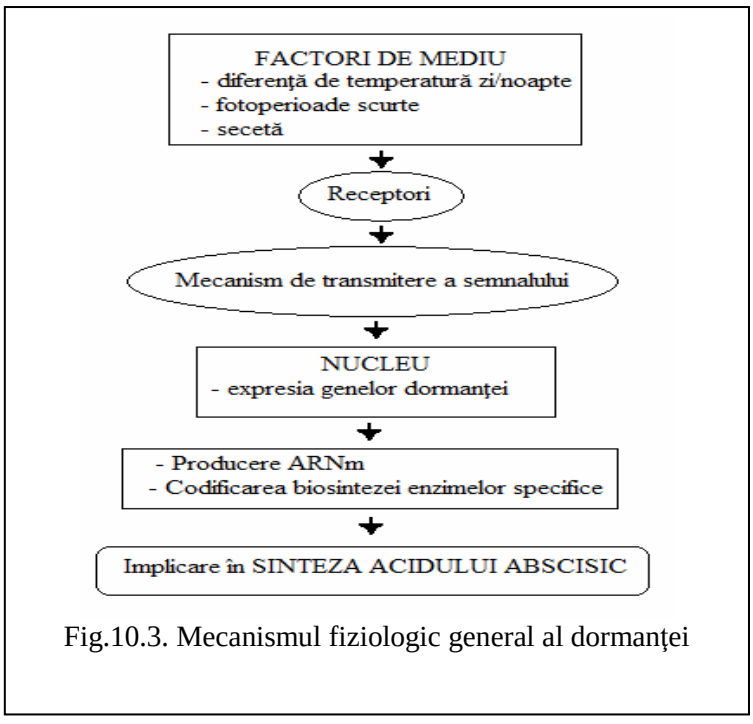


Fig.10.3. Mecanismul fiziologic general al dormanţei

10.2. Dormanţa plantei întregi

La plantele lemnoase, dormanţa se instalează la toate organele perene, dar mai întâi la muguri, apoi la trunchi, ramuri şi în cele din urmă la rădăcină.

Dacă facem referire la pomi, toamna, *momentul care marchează intrarea în dormanţă este cel al căderii frunzelor*. Intensitatea maximă a procesului se înregistrează însă la circa o săptămână, până la o lună după căderea frunzelor, având **consecinţe asupra desfăşurării unor procese fiziologice şi efecte la nivel celular**:

● încetează procesul de fotosinteză;
● se anulează forţa de aspiraţie a frunzelor şi ca urmare se diminuează procesul de absorbţie a apei (şi sărurilor minerale) şi ascensiunea sevei brute;
● vasele liberiene sunt blocate cu caloză şi se diminuează translocarea substanţelor în plantă;
● scăderea temperaturii determină creşterea vâscozităţii citoplasmei, scăderea vitezei curenţilor citoplasmatici, precum şi diminuarea activităţii enzimatice (inclusiv diminuarea intensităţii respiraţiei);
● pierderea apei determină concentrarea sucului celular şi apariţia plasmolizei de iarnă;
● din punct de vedere citologic se remarcă întreruperea plasmodesmelor;
● are loc hidroliza amidonului depozitat ca substanţă organică de rezervă în organele perene, ceea ce conduce la acumularea glucidelor solubile;
● pe parcursul dormanţei are loc modificarea balanţei hormonale, respectiv scade lent conţinutul de acid abscisic şi se biosintetizează hormoni stimulatori de creştere;
● către sfârşitul iernii, în ţesuturile aflate în dormanţă se înregistrează o intensificare lentă a proceselor fiziologice şi biochimice, corelat cu *ieşirea din dormanţă*;
● primele modificări sunt cele în legătură cu absorbţia apei din sol;
● are loc hidroliza calozei din vasele liberiene;
● se refac plasmodesmele;
● se intensifică activitatea enzimatică;
● creşte rata respiraţiei şi respectiv producerea de ATP;
● se intensifică procesele de biosinteză şi de utilizare a substanţelor de rezervă, pentru creşterea mugurilor vegetativi şi floriferi;
● se formează frunzele, ceea ce permite realizarea procesului de fotosinteză.

10.3. Dormanţa mugurilor la plantele lemnoase – Perenitatea

Plantele perene, precum pomii din zonele temperate se deosebesc de alte plante, prin capacitatea de a-și suspenda și relua creșterile în mod repetat, ca un mecanism de răspuns la factorii de mediu și condițiile datorate sezoanelor.

În principiu, perenitatea necesită cel puțin un meristem cu creștere nedeterminată, care continuă creșterea în sezonul următor.

Inițierea, menținerea și eliberarea din dormanță a mugurilor implică interacțiunea factorilor genetici, chimici și de mediu.

10.3.1. Fazele și controlul dormanței mugurilor

După Powell (1987) sunt descrise *patru faze ale dormanței mugurilor*:

I. *inducția dormanței*

Faza se caracterizează prin reducerea drastică a concentrației stimulatorilor de creștere și sporirea evidentă a activității inhibitoare, urmare în special a influenței unor factori de mediu (temperatura, lumina);

II. *menținerea dormanței*

Metabolismul și stimulatorii creșterii se mențin la valori reduse. Inhibitorii se află la concentrații mari. Factorii de mediu fluctuanți pe parcursul acestei perioade nu au efect imediat,

dar, modificările lor pot scurta perioada de dormanţă. Se poate determina ieşirea prematură din dormanță și chiar expunerea la condiții ulterioare nefavorabile (ex. înghețuri);

III.*„trăgaciul”*

Este perioada în care se înregistrează o senzitivitate excesivă la factorii de mediu sau anumite semnale. Se determină scăderea drastică a concentraţiei inhibitorilor și o creștere rapidă a nivelului stimulatorilor de creștere.

IV. *dezmuguritul sau germinarea*

Este faza în care concentrațiile mari ale stimulatorilor și mici ale inhibitorilor permit intensificarea activității enzimatice (*fig. 10.4.*).

Deci, controlul dormanței implică în principal factori endogeni (variația concentrațiilor substanțelor stimulatoare de creștere, în raport cu cea a substanțelor inhibitoare de creștere), precum și factori exogeni (temperatura, lumina etc.).

Ciclului sezonier dintre creștere și dormanță i s-a acordat mai puțină atenție, mai ales în privința factorilor endogeni (Rohde și al., 1995), în ciuda importanței sale pentru comportamentul plantelor perene. Într-o lucrare de sinteză recentă se reconsideră acest ciclu, în vederea unei noi definiții pentru dormanţă (Rhode și Bhalerao, 2007).

Din punct de vedere horticol și ecologic, descrierea dormanței în cadrul unei structuri (mugure, cambiu și sămânță) necesită înțelegerea mecanismelor moleculare la nivel celular, care guvernează tranziția la aceasta și ieșirea din dormanță.

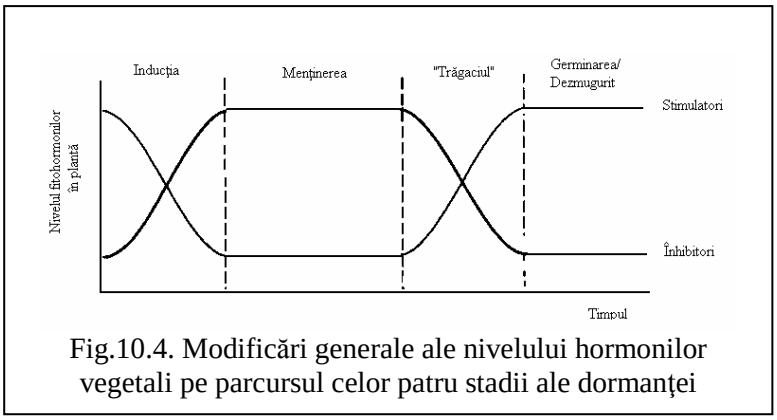


Fig.10.4. Modificări generale ale nivelului hormonilor vegetali pe parcursul celor patru stadii ale dormanţei

Dormanța este definită ca incapacitatea de a iniția creșterea (fie elongația, fie diviziunea celulară) din meristeme (și alte organe și celule cu capacitate de a înceta creșterea) în condiții favorabile.

Încetarea creșterii reprezintă o primă treaptă către instalarea dormanței și este provocată de factori de mediu precum fotoperioada, frigul sau uscăciunea. Fotoperioada este cunoscută de foarte mulți ani ca factor ce guvernează încetarea creșterii la multe plante lemnoase din climatul temperat, inclusiv planta model *Populus* sp. Frunzele percep fotoperioada și se emite un semnal către apex, unde se instalează inactivitatea. Odată ce creșterea a încetat, *stadiul dormind* devine progresiv *stabilit* și are ca rezultat incapacitatea celulelor meristematice de a răspunde la semnale promotoare ale creșterii.

Menținerea dormanței nu este pe deplin cunoscută, dar, în mod mecanicist se afirmă că celulele meristemului pot fi izolate de substanțele stimulatoare de creștere, precum giberelinele. Celulele meristematice sunt simplastic izolate (prin depunerea calozei) de celulele vecine, după tranziția la endodormanță.

Ieșirea din dormanță necesită expunerea la temperaturi joase, asemenea cerințelor vernalizării. Expunerea de lungă durată la temperaturi joase (nu pe termen scurt ca la vernalizare) restabilește capacitatea de a crește, dar nu promovează creșterea.

La arbori și arbuști din zone temperate s-a demonstrat că zilele scurte controlează încetarea creșterii și inducția dormanței. Cercetările recente în privința efectelor radiațiilor luminoase roșii,

roşu îndepărtat şi albastre asupra creşterii şi formării mugurilor au precizat rolul important al sistemului de fitocromi, ca senzor al lungimii zilei. Totodată, se sugerează rolul unuia sau a mai multor receptori ai luminii albastre. Sistemul de fitocromi interacţionează aparent cu biosinteza fitohormonilor, în particular gibereline.

La unele specii pomicole, precum *Malus pumilla* Mill şi *Pyrus communis* L. nu s-a determinat vreun efect al fotoperioadei asupra încetării creşterii şi inducţiei dormanţei. În schimb, temperatura joasă s-a dovedit foarte eficace (Heide şi Prestrud, 2005). Paradoxal este faptul că acelaşi regim de temperatură care induce dormanţa acestor specii controlează şi eliberarea din dormanţă.

De asemenea, la un număr de specii la care încetarea creşterii are loc în fotoperioade scurte, o temperatură scăzută în cursul nopţii poate provoca aceleaşi efecte, chiar în condiţii de zile lungi. Astfel de studii indică faptul că acţiunea fitocromului este afectată de temperatură şi se sugerează existenţa unei căi independente de fotoperioadă (Olsen, 2006).

În privinţa interacţiunii dintre fotoperioadă şi temperatură, cercetările efectuate la specii de *Prunus*, asemenea altor specii aparţinând subfamiliei *Pomoidae*, familia *Rosaceae* au reliefat că aceste specii sunt insensibile la fotoperioadele scurte, la temperaturi relativ mari. Răspunsul fotoperiodic al speciilor de *Prunus* este puternic dependent de temperatură (Heide, 2008).

Ieşirea din dormanţa de iarnă este controlată genetic şi s-a constatat că se realizează după acumularea unui număr specific de ore cu temperaturi coborâte pozitive. Această cerinţă previne creşterea pe parcursul perioadelor tranzitorii calde, de pe parcursul iernii. Astfel, după Richardson şi al. (1974), citat de Burzo şi al. (2004), doar temperaturile cuprinse între $2,5^0$C – $9,1^0$ C sunt active pentru ieşirea din dormanţă. Temperaturile cuprinse între 12,5 – 15,9, respectiv cele situate sub 1,4 sunt inactive. Temperaturile situate peste 16^0 C au un impact negativ asupra ieşirii din dormanţă a mugurilor. Necesarul de unităţi de frig variază cu specia şi soiul (*Malus* : 200 -2000; *Persica*: 200 – 1100; *Cerasus*: 500- 1300; *Armeniaca*: 150- 900). Conversia temperaturilor în unităţi de frig este prezentată în *tabelul 10.1*. O unitate de frig constă în expunerea mugurilor timp de o oră la temperaturi active specifice.

La măr şi păr, la care încetarea creşterii şi inducţia dormanţei sunt controlate de temperaturile joase şi nu de fotoperioadă s-a determinat că sunt necesare temperaturi de 6^0C sau 9^0C pentru cel puţin 6 săptămâni, în vederea ieşirii din dormanţă şi reluarea creşterii (Heide şi Prestrud, 2005).

Tabelul 10.1.

Conversia temperaturilor în unităţi de frig

Temperatura (^{0}C)	Unităţi de frig
1,4	0
1,5 – 2,4	0,5
2,5 – 9,1	1,0
9,2 – 12,4	0,5
12,5 – 15,9	0
16,0 – 18,0	-0,5
18,1 – 21,0	-1,0
21,1 – 23,0	-2,0

Deşi acest tip de dormanţă are o deosebită importanţă şi prezintă multiple caracteristici comune cu dormanţa seminţelor, progresul cunoştinţelor în domeniu este mai lent, comparativ cu studiile privind dormanţa seminţelor.

La viţa de vie, în cazul aplicării tratamentelor cu frig s-a înregistrat o fază a endodormaţei, până la 400 unităţi de frig, apoi, a urmat ecodormanţa (*fig. 10.5.*). Dormanţa mugurilor a fost divizată în două faze:

- de la zero, la 300 unităţi de frig, caracterizată prin creşterea concentraţiei zaharozei, prolinei, putresceinei şi spermidinei, ceea ce indica aclimatizarea la temperatura joasă pozitivă;
- după acumularea a 300 ore de frig, caracterizată prin activarea marcantă a activităţii invertazei acide, acumularea glucidelor solubile şi declinul putresceinei / spermidină, ca un început al reluării creşterii, direct responsabile pentru procentul mare de dezmugurire. Creşterea activităţii invertazei acide asigură mugurilor capacitatea de a atrage din ţesuturile înconjurătoare carbon, iar spermina şi spermidina activează meristemul, care reia creşterea activă (Mohamed şi al., 2010).

Plantele lemnoase perene au diferite tipuri de muguri (apicali, adventivi, axilari) şi în plus intervin problemele tehnice. Pomii sau arbuştii trebuie crescuți şi menținuți în condiții controlate, pentru a imita ciclul anual de creștere.

Printre aspectele comune se pot aminti:

▪ temperaturile optimale și limitele de variație pentru ieșirea din dormanță;
▪ cerințele de frig pentru muguri și semințe;
▪ reducerea potențialului de creștere atunci când frigul este întrerupt cu temperaturi mari sau stimularea, ori inhibarea germinării/ dezmuguritului prin intermediul hormonilor (Powell, 1987).

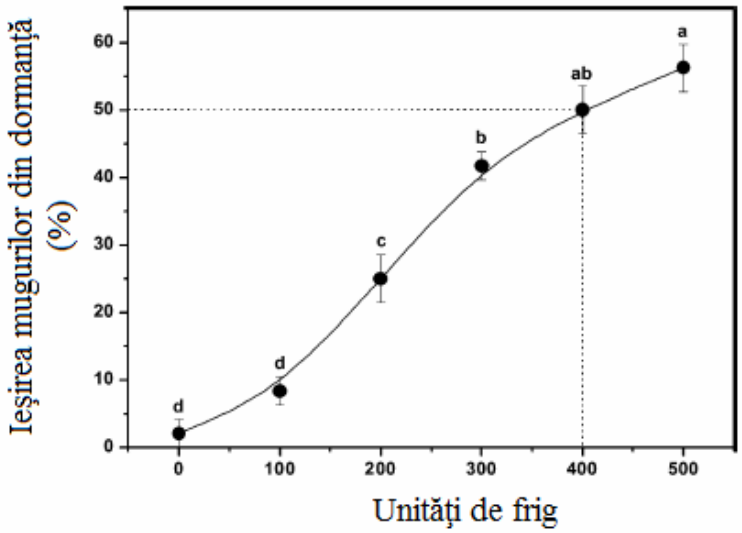


Fig. 10.5. Efectul tratamentelor cu frig asupra ieşirii din dormanţă a mugurilor la viţa de vie (după Mohamed şi al., 2010)

10.4. Dormanţa altor muguri

Dormanţa la tuberculii de *Solanum tuberosum*

Deoarece tuberculii sunt tulpini subterane modificate, ei prezintă anumite caracteristici specifice tulpinii. „Ochiurile” lor sunt muguri axilari şi rămân inactivi în prezenţa mugurelui apical. Dormanţa se instalează şi are o intensitate maximă, cât timp tuberculii sunt fixaţi încă pe plantă. Când sunt tăiaţi în fragmente pentru plantat, dominanţa apicală este pierdută şi mugurii cresc, dacă dormanţa este întreruptă.

Spre deosebire de semințe, tuberculii de cartof necesari pentru consum, dar şi pentru plantare în vederea înființării unei noi culturi se păstrează în stare hidratată. Ca urmare, fiind foarte perisabili, este esenţială asigurarea unor condiţii post-recoltă care să prevină pierderile. Practica impune şi utilizează metode pentru a prelungi dormanţa peste iarnă, inclusiv tratamente chimice

(Sorce şi al., 2005), pentru ca preţul în momentul vânzării să fie cât mai mare. Dormanţa care îi caracterizează şi care se află sub control genetic (Parish şi Cobb, 1998) reprezintă una dintre condiţiile care le favorizează supravieţuirea şi comportamentul în perioada păstrării (Elias şi al., 1995). Totuşi, certificarea precum „cartof de sămânţă" impune o întrerupere prematură a dormanţei, pentru a testa dacă probele respective sunt libere de agenţi patogeni. Timpul necesar pentru întreruperea dormanţei este mai redus, dacă tuberculii s-au păstrat la o temperatură de circa 20^0C, decât dacă s-au păstrat la temperaturi mai mici.

Pentru *întreruperea dormanţei tuberculilor de cartof*, precum şi a altor tulpini subterane pot fi efectuate tratamente chimice cu diferite substanţe: 2-cloretanol, gibereline, apă încălzită etc. De asemenea, dormanţa poate fi indusă sau prelungită prin stropirea cu hidrazidă maleică, fie foliar înainte de recoltare, fie stropirea tuberculilor după recoltare. Sunt de preferat însă tratamente cu substanţe care au o toxicitate redusă, precum monoterpenele (Sorce şi al., 2005). Pentru tuberculii destinaţi consumului este dorită o perioadă lungă de dormanță, pentru prelungirea perioadei de păstrare. Pentru cartofii de sămânță se preferă o perioadă scurtă de dormanță.

În privinţa fiziologiei tuberculului de cartof, dormanţa se poate considera ca o tranziție de la utilizator, la sursă. Când iese din dormanță, tuberculul preia funcția de sursă, susținând metabolic creșterea mugurelui, prin utilizarea substanțelor de rezervă, amidon și proteine. Momentul expresiei genei *G1-1* în mugurii tuberculului este în acord cu posibilul rol al acestei gene în menținerea funcției de utilizator (Agrimonti și al. 2007).

Dormanţa bulbilor, rizomilor, tuberobulbilor, rădăcinilor tuberizate

În general, cercetările cu privire la astfel de organe au vizat asigurarea condiţiilor optime de păstrare (în special efectul temperaturii în relaţie cu timpul) care au ca efect şi respectiv drept rezultat formarea florilor în momentele dorite şi având caracteristicile dorite. Scopul cercetărilor în domeniu a fost acela de a scurta timpul până la înflorire, adică de „a forţa" procesul.

Spre exemplu, bulbii trebuie să atingă o anumită dimensiune critică, înainte de a răspunde temperaturilor de păstrare (prin formarea primordiilor florale). La lalea, în unele cazuri se formează întâi primordiile florale, alteori frunzele şi florile se formează simultan.

La unele specii, primordiile florale se formează înainte ca bulbii să fie recoltaţi, ceea ce permite un control minim al formării florilor în perioada păstrării. Alteori, primordiile florale se formează în perioada păstrării, deci după recoltare, în vară, însă înaintea replantării care se efectuează toamna. Aceasta permite un control mai facil al momentului înfloririi.

10. 5. Dormanţa la seminţe

O *sămânță în stare de dormanță* este cea care nu are capacitatea de a germina într-o perioadă specifică de timp, în situația oricărei combinații a factorilor fizici normali de mediu, care sunt de altfel favorabili germinării acesteia, după ce sămânța devine non-dormindă (Baskin și Baskin, 2004).

Dormanța reprezintă un factor reglator de o deosebită importanță, utilizat de plante pentru supraviețuirea speciilor, în sensul planificării creșterii în sezoanele favorabile și pentru desfășurarea procesului de germinare în locuri și momente dorite. Este totodată un răspuns la anumiți stimuli și nu în ultimul rând permite răspândirea semințelor prin intermediul animalelor (Leopold, 1996). Înțelegerea clară a dinamicii „băncii de semințe" este crucială pentru conservarea biodiversităţii plantelor rare (Satterhwaite și al. 2007). Dormanța semințelor reprezintă o modalitate cheie de adaptare a plantelor pentru asigurarea „băncii de semințe" din sol.

Intrarea în dormanță se realizează în general pe plantă, odată cu maturarea semințelor și deshidratarea lor. La unele specii, semințele nu au perioadă de dormanță și pot germina imediat după recoltare. Alte semințe, în condiții de umiditate mărită pot germina chiar înainte de recoltare, pe plantă (ex. grâu încolțit în spic). În condiții optime de păstrare, durata perioadei de dormanță variază între 3- 15 ani și peste 15 ani (cereale) fără a fi afectată capacitatea germinativă.

Tranziția în cazul semințelor în dezvoltare, de la faza acumulării substanţelor de rezervă, la deshidratarea lor este asociată cu expresia unor gene specifice şi cu modificări metabolice în consecinţă. O proporţie semnificativă a expresiei acestor gene şi a efectelor metabolice induse în cursul deshidratării se aseamănă cu cele care caracterizează germinarea semințelor. Prin urmare, pregătirea semințelor pentru germinare începe deja pe parcursul perioadei de deshidratare (Angelovici şi al., 2010).

10.5.1. Tipuri de dormanţă la seminţe

Dormanța este determinată atât de factori morfologici, cât și de proprietățile fiziologice ale seminței. S-a propus un sistem de clasificare cuprinzător, care include **cinci clase de dormanță**:

- ► dormanţa fiziologică;
- ► dormanţa morfologică;
- ► dormanţa morfo-fiziologică;
- ► dormanţa fizică;
- ► dormanţa combinată (fizică-fiziologică)(*tabelul 10.2.*).

Tabelul 10.2.

Tipurile de dormanță la semințe

Dormanţa fiziologică
Dormanţa fiziologică reprezintă cea mai răspândită formă și poate fi divizată pe trei niveluri: <u>profundă</u>, <u>intermediară</u> și <u>non-profundă</u>. În cazul celei profunde, embrionul prelevat de la astfel de semințe fie nu germinează, fie produce plantule anormale. Tratamentele cu acid giberelic nu determină ieșirea din dormanță și sunt necesare câteva luni de stratificare la frig (subtipul a) sau la căldură (subtipul b), pentru ca germinarea să aibă loc. Ex. *Acer platanoides* (dormanță fiziologică profundă) și *Acer pseudoplatanus* (dormanță fiziologică intermediară). Majoritatea semințelor au o dormanță fiziologică non-profundă. Embrionii prelevați de la astfel de semințe produc plantule normale. Tratamentele cu acid giberelic pot provoca ieșirea din dormanță (în raport cu specia). De asemenea, efecte similare au scarificarea, post-maturarea în cursul păstrării în stare uscată, precum și stratificarea la frig sau căldură.
Dormanţa morfologică
Dormanţa morfologică se manifestă în semințele cu embrionii incomplet dezvoltați (în privința mărimii), dar diferențiați. Astfel de embrioni nu sunt dorminzi din punct de vedere fiziologic, ci doar necesită timp pentru a crește și germina. Ex. *Apium graveolens*.
Dormanţa morfo-fiziologică
Dormanţa morfo-fiziologică este caracteristică semințelor cu embrioni incomplet dezvoltați, dar pe lângă aceasta intervine și o componentă fiziologică. Astfel de semințe necesită un tratament pentru ieșirea din dormanță, fie o combinare a stratificării la cald sau/și frig, ori aplicarea tratamentelor cu acid giberelic. Spre exemplu: *semințele de măr* se expun prin stratificare în nisip umed și turbă la 4^0C și după circa 2,5 luni germinează 100%, în condițiile unei temperaturi de 25^0C, după 12 zile. Tehnica se mai numește prerăcire. Un alt exemplu: *Fraxinus excelsior*.
Dormanţa fizică
Acest tip de dormanță este dat de învelișurile seminței, tari și multistratificate, care practic împiedică pătrunderea apei. Ea acționează ca un mecanism de apărare, prezervând sămânța în stare uscată, chiar în condiții de umiditate. Germinarea poate fi indusă artificial, prin distrugerea tegumentului, permițându-se pătrunderea apei. În condiții naturale, înmuierea tegumentului se realizează sub acțiunea microorganismelor, trecerea prin tubul digestiv al animalelor, păsărilor sau abraziune mecanică, alternare îngheț/dezgheț și la unele specii chiar prin foc. Exemple de plante caracterizate genetic prin dormanță fizică: *Leguminoseae*, *Malvaceae*, *Cannaceae*, *Geraniaceae*, *Chenopodiaceae*, *Convolvulaceae*, *Solanaceae*.
Dormanţa combinată (fizică- fiziologică)
Dormanţa combinată este evidentă în semințe cu tegumentul impermeabil pentru apă, combinat cu dormanța fiziologică embrionară. Ex. *Geranium.*

10.5.2. Mecanismul dormanței seminţelor

Pentru *explicarea mecanismului dormanței semințelor* s-au propus diferite teorii:

►*teoria controlului hormonal*

Acidul abscisic și etilena induc dormanța, în timp ce acidul giberelic şi citochininele provoacă ieșirea din dormanță. La semințele în stare uscată, tratamentele cu temperaturi joase şi expunerea la lumină determină creșterea nivelului giberelinelor în semințe și implicit favorizează germinarea.

►*teoria temperaturii și a schimburilor de gaze*

Restricționarea pătrunderii oxigenului cauzată de caracteristicile tegumentului, precum şi temperatura ridicată induc dormanța. Efectele se datorează inhibiției activității citocrom oxidazei, componentă a lanțului de transport a electronilor în cadrul lanțului respirator, ceea ce are ca rezultat producerea unei cantități mai reduse de energie. Absorbția unei cantități mari de oxigen determină oxidarea substanțelor inhibitoare existente în semințe și în consecință se iese din dormanță.

►*teoria controlului metabolic*

Energia metabolică produsă la nivelul seminței exercită un control major asupra dormanței. Blocarea lanțului respirator la un anume nivel în cazul seminței aflate în stadiu dormind determină blocarea sintezei ATP. Totodată, hormonii vegetali pot acționa prin intermediul sintezei unor enzime. Producerea inhibitorilor de creștere este favorizată de o concentrație mică de oxigen, deci în cazul unui metabolism lent. Inhibitorii de creștere determină represia genelor, în timp ce stimulatorii de creștere determină activarea genelor.

Numeroase cercetări au condus la identificarea ca factori cheie pentru reglarea dormanței semințelor a acidului abscisic, necesar pentru inducția dormanței (Graeber şi al., 2010) și a acidului giberelic, pentru inducția germinării. Ieșirea din dormanță poate fi realizată prin scarificare, stratificare, eliminarea inhibitorilor, lumină, alternanța temperaturilor, tratamente cu temperaturi joase, tratamente cu hormoni stimulatori de creștere etc.

Cercetări recente au condus la o serie de clarificări, așa cum este identificarea proteinei *SPATULA* (*SPT*) (Penfield şi al. 2005), ca factor de transcripție și reglator cheie al germinării, prin orchestrarea interacțiunii dintre lumină şi frig în controlul ieșirii din dormanță, precum și înțelegerea modului în care semnalele din mediu sunt interpretate de către factorii de transcripție (Tsiantis, 2006).

Balanța hormonală dintre acidul abscisic ca promotor al dormanței şi gibereline, ca promotori ai germinării constituie teoria de bază. Lumina, temperatura și alte semnale funcționează prin a modula sinteza și perceperea acestor hormoni în semințe. Deși, căile prin care respectivii hormoni vegetali controlează dormanța în semințele îmbibate rămân încă de studiat, s-a precizat faptul că reglarea răspunsului la acidul giberelic prin regulatori reprezentați de proteinele *DELLA* este necesar pentru dormanță. S-a prezentat un model, prin care se obține integrarea semnalului hormonal și reglarea dormanței (Penfield și al. (2006).

10.5 3. Germinarea seminţelor

Germinarea semințelor *reprezintă un complex de modificări morfologice, anatomice, fiziologice și biochimice, care permit trecerea embrionului de la starea de viață latentă din punct de vedere biologic, la starea de viață activă.*

Cunoașterea tipurilor de dormanță la semințe, precum și a interrelației dintre ieșirea din dormanță și inducerea procesului de germinare sau prevenirea germinării prezintă o importanță deosebită în legătură cu posibilitatea manipulării dormanței în agricultură.

După Khan (1996), factorii care provoacă ieșirea din dormanță sau inducția dormanței sunt diferențiați de cei care induc sau previn germinarea (*tabelul 10.3.*).

Tabelul 10.3.

Factorii care induc dormanța sau ieșirea din dormanță, comparativ cu factorii care previn sau induc germinarea

Factori care induc dormanța (DIF)	Factori care favorizează ieșirea din dormanță sau care previn dormanța (DRF sau DPF)	Factori care previn germinarea (GPF)	Factori care induc germinarea (GIF)
▪ Lipsa acidului giberelic (GA) ▪ Inhibiția sintezei GA ▪ Prelungirea expunerii la întuneric la GPF	▪ Prezența GA ▪ Sinteza GA ▪ Umezeală – Frig ▪ Iluminare	▪ Temperaturi joase ▪ Potențial al apei mic ▪ Anaerobioză ▪ Inhibitori (ex. ABA) ▪ Temperaturi mari ▪ Inhibiție tegumentară	▪ Temperatura moderată ▪ Potențial al apei mare ▪ Citochinine ▪ Etilenă ▪ Oxigen

Din punct de vedere agronomic, se consideră că o sămânță a germinat atunci când a apărut o plantă autotrofă, fără a se ține cont de procesele fiziologice implicate.

După Evenary (1957), *germinarea este procesul delimitat de începutul hidratării semințelor și începutul creșterii radiculei*. Această definiție este acceptată de fiziologi. Se consideră că germinarea este încheiată, în momentul când radicula a străpuns tegumentul. Ceea ce urmează constituie un proces de creștere.

În funcţie de partea axei embrionare care prezintă cea mai intensă alungire, se disting două tipuri principale de creştere (germinare) (*fig. 10.6.*).

● *creşterea epigee* (germinarea epigee);

Cotiledoanele ajung deasupra solului, ca urmare a elongaţiei marcante a hipocotilului, în timp ce axa epicotilă are dimensiuni mici. Dintre plantele cu creştere epigee se pot menţiona: *Phaseolus vulgaris*, *Cucumis sativus*, *Allium cepa*, *Lactuca sativa* etc.

● *creşterea hipogee* (germinarea hipogee);

Cotiledoanele rămân în sol, axa hipocotilă are dimensiuni mici, iar epicotilul se alungeşte, împingând plumula deasupra solului. Dintre plantele cu creştere hipogee se pot aminti: *Zea mays*, *Pisum sativum*, *Triticum aestivum*, *Tradescantia* spp. etc.

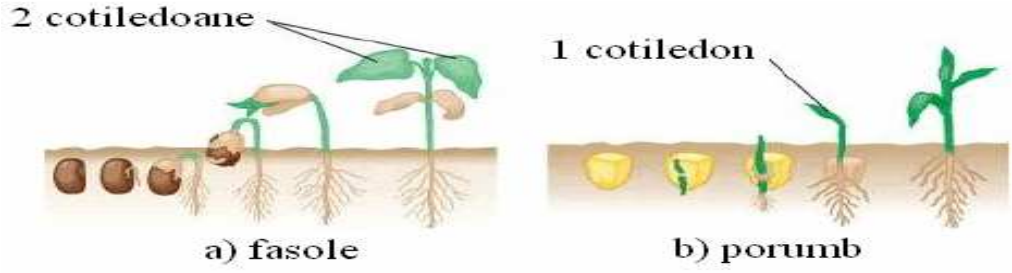


Fig. 10.6. Creşterea epigee (a) şi creşterea hipogee (b)

10.5.3.1. Fiziologia și biochimia germinării semințelor

Pe parcursul germinării seminţelor se petrec o serie de evenimente fiziologice și biochimice.

În privința *absorbției apei*, germinarea include în mod clasic ***trei faze***:

► imbibiția semințelor și reinițierea proceselor metabolice (faza I);

► faza de „lag" a absorbției apei sau germinarea în sens strict (faza II);

► absorbția intensă din nou a apei, odată cu apariția radicului, altfel denumită și faza de creştere (faza III) (Savage – Finch și Leubner- Metzger, 2006) (*fig.10.7.*).

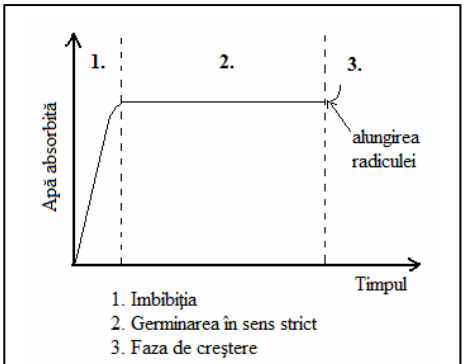


Fig. 10.7. Curba de absorbţie a apei, de către seminţe în cursul germinării

Imbibiția *este un <u>proces fizic</u> de adsorbție a apei de către suprafețele hidrofile, conducând la sporirea masei și volumului semințelor care se îmbibă. Este un proces reversibil.* Creşterea radiculei marchează trecerea de la stadiul reversibil, la cel ireversibil. Trebuie făcută distincţia între imbibiţie, ca proces fizic şi creştere, ca proces fiziologic (proces ireversibil), deşi ambele conduc la sporirea masei şi volumului celulelor.

Imbibiția face ca tegumentul să fie permisiv pentru pătrunderea oxigenului, iar hidratarea protoplasmei favorizează reinițierea activității enzimatice. Această activitate contribuie la biodegradarea substanțelor complexe de rezervă (glucide, proteine, lipide) (vezi Cap. 8.) la substanțe mai simple, posibil de utilizat în ciclul respirator.

Pe lângă procesul de absorbţie a apei, din punct de vedere fiziologic, o atenţie deosebită este acordată procesului de **respiraţie**. Din acest punct de vedere se pot evidenţia de asemenea trei faze (*fig. 10.8.*), corespunzător de altfel etapelor germinării (*fig. 10.9.*). În cadrul primei faze, corespunzător imbibiţiei, intensitatea respiraţiei creşte. Urmează apoi a se menţine la o rată relativ constantă, pe parcursul etapei de germinare în sens strict, după care creşte din nou, odată cu procesul de alungire a radicului. În primele stadii ale germinării, respiraţia este una de tip cianid rezistentă.

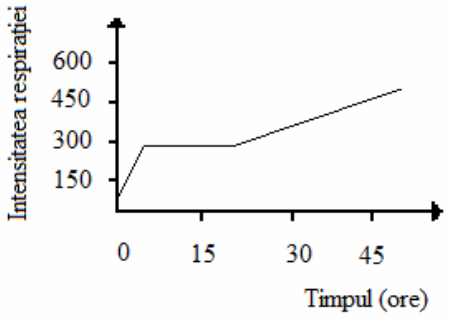


Fig. 10.8. Intensitatea respiraţiei (µL O_2 g^{-1}s.u. h^{-1}) achenelor de *Bidens radiata* la 25^0C şi la lumină (după Rollin, 1975)

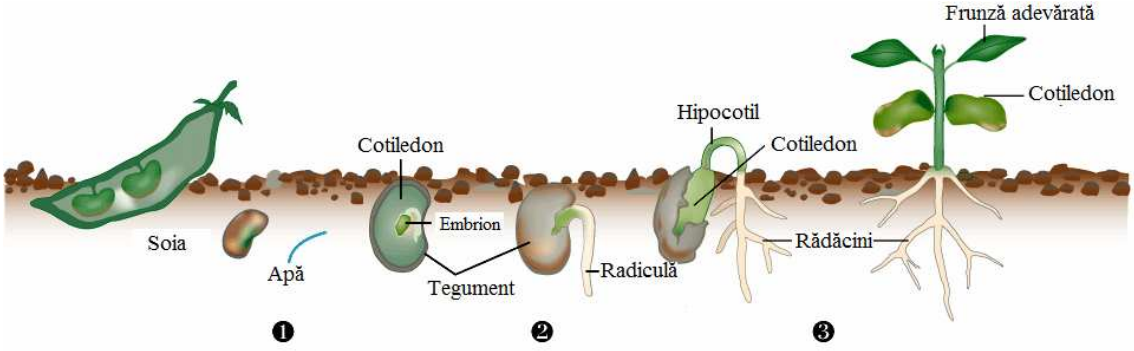


Fig. 10.9. Fazele germinării seminţelor la soia

Au loc de asemenea **modificări hormonale.** Din acest punct de vedere, acidul giberelic s-a dovedit a fi un factor inductor al germinării (*fig.10.10.*– la orz), fără a fi considerat un hormon promotor universal valabil.

În cazul semințelor de cereale, acidul giberelic este sintetizat la nivelul axei embrionare şi are loc translocarea către stratul celulelor cu aleuronă. Aici are loc secreția enzimelor cu acțiune hidrolitică, care sunt trimise către endosperm, unde determină hidroliza substanțelor de rezervă.

Citochininele promovează de asemenea germinarea.

Acidul abscisic însă inhibă sinteza α - amilazei şi în consecinţă blochează biodegradarea amidonului.

În *figura 10.11*. sunt prezentate sintetic evenimentele fizice şi fiziologice care au loc pe parcursul germinării semințelor.

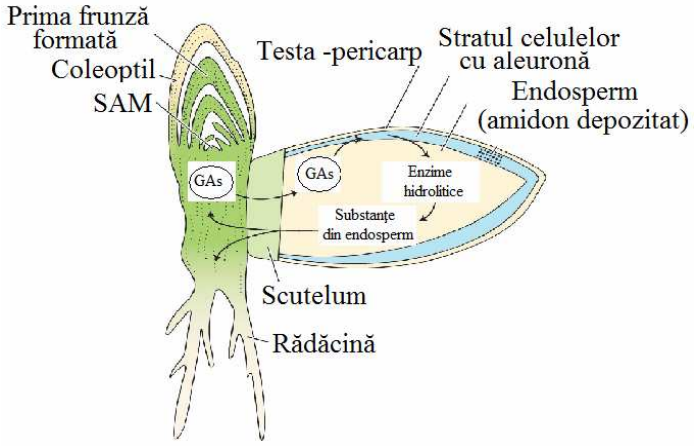


Fig.10.10. Acidul giberelic, ca promotor al germinării

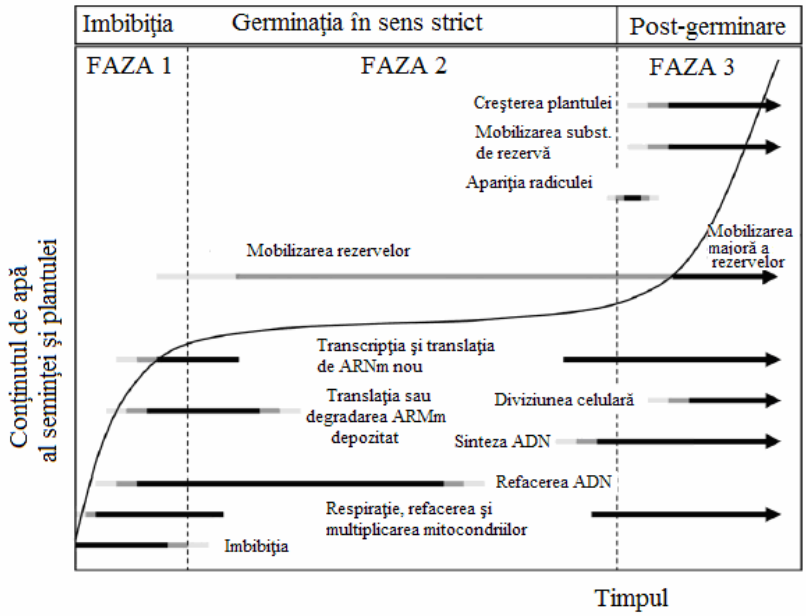


Fig. 10.11.Evoluția evenimentelor fizice şi metabolice pe parcursul germinării şi creşterii timpurii a plantulelor (după Nonogaki şi al., 2010)

Condiţiile pentru germinare şi criterii de apreciere a germinării seminţelor

Capacitatea germinativă a seminţelor depinde de numeroşi factori interni şi externi.

Specia *constituie un factor determinant* al duratei de timp cât se păstrează această proprietate fiziologică.

Conform longevităţii specifice, seminţele se împart în trei categorii:

1. - seminţe microbiotice (cu longevitate scurtă);

Acestea nu supravieţuiesc mai mult de 3 ani. Exemple de astfel de seminţe pot fi cele de *Populus*, *Tilia* (câteva zile sau câteva săptămâni); *Allium cepa*, *Zea mays* (2 ani); *Pisum sativum*, *Phaseolus vulgaris* (3 ani). Spre deosebire de celelalte tipuri, multe dintre acestea nu suportă procesul de deshidratare, sunt bogate în apă, embrionul lor rămâne activ şi moare prin deshidratare. În stadiul de deshidratare naturală, metabolismul lor este foarte redus, însă nu ajunge la zero, deoarece ele nu sunt total lipsite de apă. Prin urmare, acest metabolism din perioada de dormanţă este totuşi necesar pentru supravieţuirea seminţelor.

2. - seminţe mezobiotice (cu longevitate medie);

Acestea supravieţuiesc o perioadă de timp cuprinsă între 3 şi 15 ani. Reprezintă categoria în care sunt cuprinse majoritatea speciilor. Exemple de astfel de specii: *Rumex*, *Sinapis* (4 ani); *Daucus*, *Spinacea* (5 ani); *Beta vulgaris*, *Cucurbita pepo* (6 ani); *Cucumis sativus*, *Cichorium intybus* (10 ani); *Digitalis lanata* (15 ani).

3. - seminţe macrobiotice (cu longevitate mare);

Acestea pot supravieţui mai mult de 15 ani. Sunt numeroase exemple de specii de plante la care seminţele îşi păstrează viabilitatea peste 50 sau 100 de ani. Spre exemplu, seminţele de *Chenopodium album* germinează chiar şi după 1700 ani.

Evaluarea germinării în cazul unui lot de seminţe presupune testarea în condiţii controlate (umiditate, temperatură) în laborator, de obicei în vase Petri pe hârtie de filtru umectată, având în vedere prevederile STAS în acest sens. Evoluţia procesului de germinare în timp (numărând seminţele germinate în dinamică) se marchează prin *trasarea curbei de germinare*, care de fapt reprezintă evoluţia procesului de germinare cumulat, în funcţie de timp. În general, o astfel de curbă are aspect sigmoid, caracterizată printr-o perioadă de latenţă la început, corespunzător imbibiţiei şi germinării în sens strict. În privinţa derulării procesului, în mod schematic se pot prezenta patru tipuri de curbe, care se pot regrupa în două familii (*fig. 10.12.*).

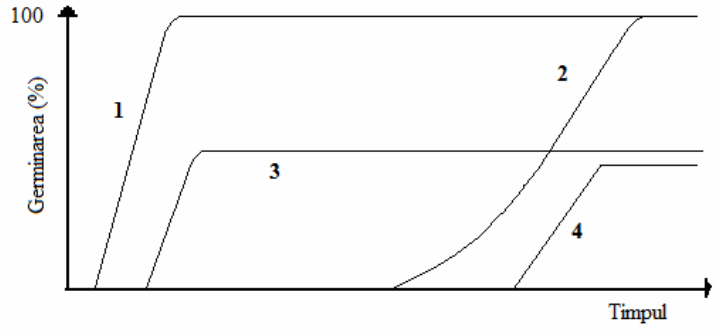


Fig. 10.12. Curbe teoretice ale germinării seminţelor

Aşa cum se observă în cazul primei curbe, toate seminţele germinează, iar procesul este foarte regrupat. Pentru a doua curbă, procesul este foarte etalat în timp. Alteori, procentul maxim de germinare este atins foarte rapid (curba 3) sau germinarea este foarte lentă (curba 4). Este evident faptul că, în cazul unui lot de seminţe, nu toate seminţele au aceeaşi capacitate de germinare.

În general, pentru evaluarea germinării seminţelor, pe lângă stabilirea curbei de germinare *se stabilesc energia germinativă* (seminţele cu energie germinativă mare germinează într-un timp mai scurt şi dau plantule mai viguroase) *şi facultatea germinativă* (care arată în ce măsură embrionul seminţei este capabil să germineze şi în condiţii favorabile să devină o plantulă).

Un alt indicator deosebit de util este cel denumit *coeficientul de velocitate al germinării seminţelor* (C_v) propus de Kotowski (1926).

Dintre **condiţiile externe** de maximă importanţă se pot aminti: apa, oxigenul, temperatura (factori absolut necesari în limite optime), lumina sau întunericul etc.

1. Apa trebuie asigurată sub formă lichidă şi în cantitate suficientă. Ea permite realizarea imbibiţiei, respectiv hidratarea coloizilor, urmată de hidroliza substanţelor organice de rezervă, la substanţe osmotic active. Se intensifică activitatea enzimatică, cât şi procesul de absorbţie ulterioară a apei.

Cantitatea de apă absorbită în cursul imbibiţiei depinde:

- pe de o parte, de *natura substanţelor care se îmbibă*;
- şi pe de altă parte, de *natura substanţelor dizolvate în soluţia solului*.

În cazul semințelor amidonoase, gradul de imbibiție exprimat ca spor procentual de masă este de circa 45- 50%, în timp ce la semințele albuminoide se ajunge la circa 100 – 120%.

Totodată, în contact cu soluția solului semințele pierd o parte din substanțele solubile, deoarece membranele biologice sunt deteriorate. Cantitatea de substanțe pierdute este dependentă de ritmul de refacere a membranelor biologice, ceea ce se corelează cu coeficientul de velocitate al germinării semințelor. Spre exemplu, determinările scurgerii electroliților totali și ale Ca^{2+} în special, în cazul semințelor de soia obținute în condiții variate de stres hidric, au demonstrat că un coeficient de velocitate cu valori mici este corelat cu o scurgere masivă a electroliţilor în perioada imbibiţiei, precum şi cu o pierdere accelerată a calciului (Delian şi al., 2000).

De asemenea, natura cationilor din soluţia solului influenţează gradul de imbibiţie. De altfel, moleculele şi ionii hidrofili cu solubilitate similară în lipide penetrează în celule cu viteze diferite, invers proporţionale cu mărimea lor în stare hidratată. În cazul litiului (Li) cu masa atomică 6.9, care are doar un singur strat de electroni, are un diametru de 0,12 nm în stare nehidratată şi leagă circa 5 molecule de H_2O. Spre deosebire de acesta, K (masa atomică 39,1) are câteva straturi de electroni şi un diametru nehidratat de 0,27 nm, în schimb leagă doar 4 molecule de H_2O. Litiul hidratat este deci puţin mai mare, decât potasiul hidratat şi difuzează mai lent prin membranele biologice. Cationii bivalenţi, precum: Ca^{2+}, Mg^{2+} leagă circa 20 molecule de H_2O şi sunt absorbiţi mult mai încet, decât cationii monovalenţi.

Lipsa apei sau stresul hipohidric afectează negativ germinarea seminţelor. Cercetările efectuate la mazăre şi soia, în condiţii de laborator, prin inducerea stresului hipohidric au demonstrat o reducere a facultăţii germinative, dar mai ales a energiei germinative, odată cu accentuarea severităţi stresului hidric (Voican şi al., 1995; Delian şi al, 2003).

2. Oxigenul este absolut necesar pentru germinarea seminţelor, având în vedere utilizarea sa în procesul de respiraţie. Din punct de vedere cantitativ, cerinţele speciilor sunt diferenţiate. Multe seminţe germinează în condiţiile unei concentraţii de 2-5% oxigen. În anumite cazuri, un exces de oxigen devine nefavorabil germinării în sens strict.

3. Temperatura interferă cu oxigenul, prin aceea că influenţează viteza de consum a oxigenului de către embrion şi totodată modifică solubilitatea oxigenului. La temperatură ridicată creşte gradul de solubilitate a acestui gaz. În cazul seminţelor merelor spre exemplu, s-a demonstrat că embrionul necesită mai mult oxigen, în cazul unei temperaturi ridicate a atmosferei.

Temperatura intervine în mod direct, prin aceea că o temperatură ridicată induce în general o intensificare a reacţiilor metabolice. Pe parcursul celor trei faze însă, temperatura optimă este diferită. Pentru primele faze, optimul termic este mult inferior celui specific fazei de creştere.

Acţiunea indirectă a temperaturii se concretizează prin efectul său asupra solubilităţii oxigenului în embrion.

Temperatura optimă pentru germinare variază cu specia de plantă, cu originea acesteia etc. Spre exemplu, la speciile din climatul temperat, în general, temperaturile necesare sunt situate la valori mici (chiar 0^0C), comparativ cu speciile tropicale, care necesită cel puţin 20-25^{0}C pentru a germina. De asemenea, este foarte dificil a preciza care sunt *temperaturile cardinale* (minim, optim şi maxim) pentru o anumită specie, având în vedere variabilitatea existentă de la soi la soi, stadiul de maturitate al seminţelor, vârsta acestora etc.

Este totodată cunoscut faptul că seminţele multor specii de rozacee (piersic, prun, cireş) nu germinează până nu au fost expuse câteva săptămâni sau luni la temperaturi joase şi oxigen, în condiţii de umezeală. Această practică de menţinere a seminţelor pe timpul iernii în lăzi cu nisip umed este denumită *stratificare*. Pentru că sunt necesare şi temperaturi joase, se foloseşte şi denumirea de *pre-răcire*. Probabil că în această perioadă dispar inhibitorii sau se acumulează anumiţi fitohormoni stimulatori, precum giberelinele şi citochininele.

4. Lumina este un factor important pentru germinarea anumitor tipuri de seminţe.

În literatura de specialitate sunt descrise trei categorii de seminţe:

● *seminţe pozitiv fotosensibile;*

Acestea germinează mai uşor la lumină, decât la întuneric. Dintre acestea, unele chiar nu germinează la întuneric şi sunt denumite cu fotosensibilitate pozitivă strictă (ex. *Lactuca sativa*).

● *seminţe cu fotosensibilitate negativă*;

Astfel de seminţe nu germinează sau germinează greu la lumină (ex. *Phaecelia tanacetifolia*).

● *seminţe non-fotosensibile*;

Ele germinează atât la lumină, cât şi la întuneric. În această categorie sunt cuprinse numeroase specii de plante cultivate (multe leguminoase, tomate etc.).

Din cele prezentate mai sus reiese importanţa luminii albe în general, dar, trebuie precizat că lumina intervine şi prin *compoziţia sa spectrală* sau prin calitatea sa. Lumina incandescentă spre exemplu este net mai eficace în inhibarea germinării seminţelor cu fotosensibilitate negativă, comparativ cu lumina fluorescentă.

În privinţa *duratei de acţiune a luminii*, în general, seminţele cu fotosensibilitate pozitivă necesită pentru stimularea germinării o iluminare de scurtă durată, altele însă solicită o iluminare de lungă durată sau iluminare scurtă, repetată.

Referitor la **mecanismul de acţiune al luminii**, odată cu descoperirea fitocromului (vezi Cap.9) şi a conversiei sale de la fitocrom activ, la fitocrom inactiv şi invers s-a reuşit interpretarea multor procese fiziologice, inclusiv implicarea sa în procesul de germinare.

La seminţele pozitiv fotosensibile, fitocromul P_r este transformat de lumina roşie, la forma activă P_{fr} inducând germinarea. Pentru seminţele la care lumina inhibă germinarea, concentraţia fitocromului activ este aparent suficient de mare, pentru a fi indusă germinarea chiar la întuneric. La seminţele iluminate intervine efectul luminii roşu-îndepărtat, care transformă P_{fr} la forma inactivă P_r.

5. Pe lângă factorii menţionaţi, procesul de germinare se află de asemenea sub incidenţa unor **inhibitori** fie *naturali*, fie *artificiali* (ex. etilena, acidul cianhidric, derivaţi fenolici, alcaloizi, acidul abscisic etc.). Spre exemplu, seminţele de tomate nu germinează în fruct, chiar dacă temperatura este propice şi este asigurată umiditatea. Dacă însă seminţele se scot din fruct, se zvântă şi apoi se seamănă, ele vor germina. Germinarea are loc chiar după scoaterea din fruct şi spălarea lor. Explicaţia privind imposibilitatea germinării în fruct este dată de existenţa unui pH scăzut (Bewley şi Black, 1984). Pot fi de asemenea prezenţi şi alţi inhibitori, precum acidul abscisic.

Inhibitori ai germinaţiei seminţelor se pot afla şi în frunze, rădăcini şi alte organe ale plantelor.

6. Totodată, stresul biotic are un impact major asupra capacităţii germinative a seminţelor, precum şi asupra vigorii plantulelor (Delian, 2006; Delian şi al., 2006).

Întrebări

1. Definiţi starea de dormanţă şi precizaţi principalele tipuri de dormanţă la plante.
2. Explicaţi mecanismul fiziologic general al dormanţei.
3. Precizaţi care sunt modificările fiziologice şi citologice în cazul dormanţei plantei întregi.
4. Precizaţi fazele dormanţei mugurilor la plantele lemnoase şi caracteristicile acestora.
5. Definiţi dormanţa seminţelor şi precizaţi tipurile de dormanţă la seminţe.
6. Definiţi germinarea seminţelor şi precizaţi etapele acestui proces.
7. Definiţi imbibiţia seminţelor şi explicaţi factorii care influenţează acest proces.
8. Cum se poate evalua capacitatea germinativă a seminţelor?
9. Explicaţi rolul apei în cursul procesului de germinare a seminţelor.
10. Explicaţi rolul temperaturii în cursul procesului de germinare a seminţelor.

Bibliografie selectivă

Agrimonti, C. și al. 2007. *G1-1* and *LeG1/LeG1-2* genes are involved in meristem activation during breakage of dormancy and early germination in potato tubers and tomato seeds. Plant Science, Vol. 173: 533- 541.

Baskin, J.M. și Baskin,C.C. 2004. A classification system for seed dormancy. Seed Science Research,Vol. 14:1-16.

Burzo, I., Delian Elena, Dobrescu Aurelia, Voican Viorica, Bădulescu Liliana. 2004. Fiziologia plantelor de cultură, Vol. I. Procesele fiziologice din plantele de cultură. Ed. Ceres, Bucureşti.

Delian Elena, Voican Ana, Bădulescu Liliana, Săvulescu Elena.2003. Physiological particularities at pea (*Pisum sativum* L.) seed germination in water stress conditions. Analele Universităţii din Craiova, Vol. III (XLIV), p: 279-283.

Delian Elena. 2006. Fiziologia stresului biotic la plante. Editura Cartea Universitară, Bucureşti.

Delian Elena, Gheorghieş C., Bădulescu Liliana, Cristea Stelica. 2006. Physiological quality of wheat seeds under black point incidence.. XXXVI ESNA Annual Meeting Iaşi- Romania, Proceedings: 899-906.

Delian Elena. 2008. Fiziologia plantelor. Ed. Printech, Bucureşti.

Graeber, K., Linkies, A., Müller, K., Wunchova, A., Rott, A., Leubner-Metzgeer, G. 2010. Cross species approaches to seed dormancy and germination: conservation and biodiversity of ABA-regulated mechanism and the *Brassicaceae* DOG1 genes. Plant Mol. Biol., Vol.73: 67-87.

Heide, O.M. și Prestrud, K. 2005. Low temperature, but not photoperiod, controls growth cessation and dormancy induction and realise of apple and pear. Tree Physiology, Vol. 25: 109- 114.

Heide, O.M. 2008. Interaction of photoperiod and temperature in the control of growth and dormancy of *Prunus* species. Scientia Horticulture, Vol. 115: 309- 314.

Horvath, D.P. și al. 2003. Knowing when to grow: signals regulating bud dormancy. Trends in Plant Science, Vol. 8: 534- 540.

Horvath, D. P. 2009. Common mechanisms regulate flowering and dormancy. Plant Science, Vol. 177: 523-531.

Karlberg, A., Englund, M., Petterle, A., Molnar, G., Sjödin, A., Bako, L., Bhalerao, R.P. 2010. Analysis of global changes in gene expression during activity-dormancy cycle in hybrid aspen apex. Plant Biotechnology, Vol. 27: 1-16.

Klimešová, J. și Klimeš, L. 2007. Bud bank and their role in vegetative regeneration- A literature review and proposal for simple classification and assessment. Perspectives in Plant Ecology, Evolution and Systematics, Vol. 8: 115- 129.

Lang , G.A. 1987. Dormancy: a new universal terminology. Hort Science, Vol. 22: 817- 820.

Olsen, J.E. 2006.Mechanism of dormancy regulation. Acta Horticulturae, Vol. 727: 157- 165.

Penfield, S. și al. 2005. Cold and light control seed germination through the bHLH transcription factor SPATULA. Current Biology, Vol. 15: 1998- 2006.

Penfield, S. și al. 2006. DELLA- mediated cotyledon expansion breaks coat-imposed seed dormancy. Current Biology, Vol. 16: 2366- 2370.

Rohde, A. și Bhalerao, R.P. 2007. Plant dormancy in the perennial context. Trends in Plant Science, Vol. 12: 217- 223.

Satterhwaite, W.H. și al. 2007. Seed banks in plant conservation: case study of Santa Cruz tarplant restoration. Biological Conservation, Vol. 135: 57- 66.

Savage – Finch, W.E. și Leubner- Metzger, G. 2006. Seed, dormancy and the control of germination. New Phytol., Vol. 171: 501- 523.

Shefferson, R.P. 2009. The evolutionary ecology of vegetative dormancy in mature herbaceous perrenial plants. J. Ecol., Vol. 97: 1000-1009.

Tsiantis, M. 2006. Plant development: multiple strategies for breaking seed dormancy. Current Biology, Vol. 16: R25- R27.

Voican Viorica, Delian Elena. 1995. Cercetări privind unele procese fiziologice la germinarea semințelor de mazăre în condiţii de stres hidric. Lucrări Ştiinţifice, seria A, Vol. XXXVIII, p. 9-35.

Voican Viorica, Ungureanu Livia, Delian Elena. 1996. Particularităţile morfo-anatomice şi fiziologice la *Gleditsia triacanthos* L. privind germinarea semințelor. Lucrări Ştiinţifice, Seria A, XXXIX, p. 35-43.